

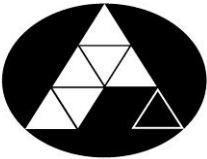
POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Otto Lehtinen

COBAS-6000 - KLIINISEN KEMIAN ANALYSAATTORIN LAITEKOESTUS PARATHORMONIMÄÄRITYKSEN OSALTA

Opinnäytetyö  
Lokakuu 2011

 <p>POHJOIS-KARJALAN AMMATIKORKEAKOULU</p>	<p><b>OPINNÄYTETYÖ</b> <b>Lokakuu 2011</b> <b>Bioanalytiikan koulutusohjelma</b></p> <p>Tikkarinne 9 80200 JOENSUU p. (013) 260 6600</p>
<p><b>Tekijä</b> Otto Lehtinen</p>	
<p><b>Nimeke</b> COBAS-6000 KLIINISEN KEMIAN ANALYSAATTORIN LAITEKOESTUS PARATHORMONIMÄÄRITYKSEN OSALTA</p> <p><b>Toimeksiantaja</b> Kymenlaakson sairaanhoito- ja sosiaalipalvelujen kuntayhtymän (Carea), kliinisen kemian ja hematologian laboratorio</p>	
<p><b>Tiivistelmä</b></p> <p>Laitekoestus on analysaattorin toimintakyvyn testaamista. Tutkimuksessa koestettavana analysaattorina oli Roche Cobas-6000. Koestus suoritettiin elektrokemiluminometrisen parathormonimäärityksen osalta. Tarkoituksena oli selvittää, kuinka toistettavia ja täsmäviä tuloksia Cobas-analysaattori antaa ja kuinka hyvin saadut tulokset täsmäivät aiemman palveluntarjoajan, Medixlaboratorion, tulostasoon.</p> <p>Tutkimus määriteltiin kvantitatiiviseksi. Saadut analyysitulokset on sen mukaisesti arvioitu tilastollisin menetelmin.</p> <p>Tutkimusta varten kerätyistä potilasnäytteistä analysoitiin parathormoni-pitoisuus kahdesti jokaisesta näytteestä sekä lisäksi valmistajan laaduntarkkailunäytteet. Potilasnäytteiden tuloksista arvioitiin sarjan sisäistä ja kontrollituloksista sarjojen välistä toistettavuutta. Lisäksi tuloksia verrattiin aiemman palveluntarjoajan tulostasoon.</p> <p>Tulokset analysoitiin Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmalla ja niistä laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja variaatioprosentti, sekä korrelaatiokertoimet. Asetettujen hypoteesien testaus tapahtui vertailemalla tuloksia parametrisen t-testin avulla. Lisäksi tuloksia arvioitiin graafisesti.</p> <p>Tulosten mukaan Cobas-6000 - analysaattori antaa toistettavia ja täsmäviä tuloksia sarjan sisällä ja sarjojen välillä. Kun vertailtiin tuloksia vertailumenetelmää vasten, havaittiin ero tulostasoissa. Parathormonimääritys otettiin tästä huolimatta osaksi laboratorion tutkimusvalikoimaa. Jatkotutkimusaiheina voisi olla tutkia analysaattorin toimintaa siirtymävirheen ja hook-efektin osalta.</p>	
<p><b>Kieli</b> suomi</p>	<p>Sivuja 65 Liitteet 7 Liitesivumäärä 13</p>
<p><b>Asiasanat</b> kliinisen kemian analysaattori, laitekoestus, parathormoni, toimivuuden arviointi</p>	

 <p><b>NORTH KARELIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES</b></p>	<p><b>THESIS</b>  <b>October 2011</b>  <b>Degree Programme in 2011</b>  Tikkarinne 9  FIN 80200 JOENSUU  FINLAND  Tel. 358-13-260 6600</p>	
<p>Author Otto Lehtinen</p>		
<p>Title The Analyzer Evaluation of Cobas-6000 Clinical Chemistry Analyzer with the Parathyroid Hormone Measurement Application</p> <p>Commissioned by Carea – Kymenlaakso Social and Health Services, Laboratory of Clinical Chemistry and Haematology</p>		
<p>Abstract</p> <p>Analyzer evaluation means testing the competence of an analyzer. In this research, the measurement application of parathyroid hormone with the clinical chemistry analyzer, Roche Cobas 6000 was tested. The aim was to examine whether the analyzer produces repeatable and accurate parathyroidhormone results and compare these results to the results analyzed in Medix laboratory which is used as the comparison method.</p> <p>This analyzer evaluation was determined to be examined with a quantitative research method. Because of this, results were evaluated with statistical methods.</p> <p>The bloodsamples collected from patients for the purpose of evaluation were assayed twice. Also the control samples were assayed. The patient sample results were used to examine the within-run imprecision and the control sample results the between-run imprecision. Patient samples and the measured parathyroidhormonelevels were also compared with the hormonelevels measured by Medix laboratory.</p> <p>The results were analysed with Microsoft Excel. The software was used to calculate the mean, standard deviation, variation in percentage and correlation coefficient. Also the reaserch hypotheses were assessed and they were tested with the parametric t-test. Graphical evaluation was also used as a method of estimation.</p> <p>Statistical results show that the Cobas-analyzer is capable of producing repeatable and accurate parathyroidhormone results when evaluating both within-run and between-run imprecision. Still the results of the Cobas analyzer were not repeatable when compared with the results of Medix laboratory. Parathyroidhormone measuring application was still included as a part of the laboratory's analysis repertory.</p>		
<p>Language Finnish</p>	<p>Pages 65  Appendices 7  Pages of Appendices 13</p>	
<p>Keywords analyzer evaluation, parathyroid hormone</p>		

# SISÄLTÖ

Tiivistelmä

Abstrakti

1 JOHDANTO .....	5
2 PARATHORMONI JA SEN MÄÄRITYS .....	6
2.1. Parathormonimäärityksen kliininen merkitys .....	8
2.2 Parathormonimääritys ECL-menetelmällä .....	10
3 KLIINISEN LABORATORION LAATU .....	13
3.1 Mittausepävarmuuden arviointi .....	14
3.2 Kontrollinäytteet .....	15
3.3 Sisäinen laadunohjaus .....	16
3.4 Ulkoinen laadunarviointi .....	17
4 MENETELMÄ- JA LAITEKOESTUS .....	18
4.1 Tutustumisjakso eli pilottitutkimus .....	18
4.2 Koestus .....	19
4.3 Toistettavuus .....	21
4.4 Päivänaikainen liukuma ja siirtymävirhe .....	22
4.5 Antigeeniylimäärä eli hook-efekti .....	22
4.6 Vertailu tunnettuun aikaisempaan menetelmään .....	23
5 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TEHTÄVÄ .....	23
6 KOESTUKSEN TOTEUTUS .....	24
6.1 Parathormonimäärityksen vakiointi .....	24
6.2 Tutustumisjakso .....	25
6.3 PTH-koestus .....	25
6.3.1 Tutkimatta jäävät koestuksen osa-alueet .....	26
6.3.2 Tutkittavat koestuksen osa-alueet .....	27
7 TILASTOLLISET MENETELMÄT .....	28
7.1 Toistettavuus ja vertailu aiempaan menetelmään .....	29
7.2 Korrelaatio .....	30
7.3 Tutkimushypoteesit .....	31
8 TULOKSET .....	33
8.1. Sarjan sisäinen toistettavuus .....	33
8.2 Toistomääritysten tutkiminen graafisesti .....	34
8.3 Sarjojen välinen toistettavuus .....	35
8.4 Menetelmien vertailu .....	37
8.4.1 Analyysitulosten vertailu .....	37
8.4.2 Tulosten graafinen vertailu .....	38
8.5 Hypoteesien testaus .....	39
9 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA .....	40
9.1 Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset .....	40
9.1.1 Sarjan sisäisen toistettavuuden arviointi .....	40
9.1.2 Sarjojen välisen toistettavuuden arviointi .....	41
9.1.3 Vertailu Medix laboratorion tulostasoon .....	42

9.1.4 Hypoteesien testaus ja arviointi .....	42
9.1.5 Tulosten yhteenveto .....	43
9.2 Tutkimuksen luotettavuus .....	43
9.3 Tutkimuksen eettisyys .....	46
9.4 Koestuksen tulosten hyödynnettävyys .....	48
9.5 Jatkotutkimusaiheet .....	49
LÄHTEET .....	50

## LIITTEET

Liite 1 Laboratoriopäiväkirja

Liite 2 Laboratoriopäiväkirja, täytetty

Liite 3 Opinnäytetyössä käytetyt laskukaavat

Liite 4 Toistomittauksin saadut PTH-tulokset ryhmiteltyinä pitoisuuksien mukaan

Liite 5 Medixin ja Cobaksen tulokset

Liite 6 PreciControl -kontrollinäytteiden tulokset kolmena analysointipäivänä

Liite 7 Hypoteesien tilastollisen testauksen t-testitulokset

## 1 JOHDANTO

Laboratorion vastaamilla analyysituloksilla on merkitystä monessa eri tilanteessa, kuten tuotannollisten ja oikeudellisten sekä ympäristöä ja ihmisen terveyttä koskevien päätösten kannalta. Luotettavuuden takaamiseksi laboratorion on täytettävä vastuu tekemänsä analyysityön laadukkuudesta. (Jaarinen & Niiranen 2005, 8-9.)

Laboratorioalan kehitys, kuten lisääntynyt automaatio ja näytteiden lukumäärän kasvu, ovat johtaneet laadunvarmistukseen liittyvien vaatimusten lisääntymiseen. Laadukkaan työn takaamiseksi laboratorion on kyettävä todentamaan tulosten oikeellisuus osoittamalla koko mittausjärjestelmän kyky tuottaa oikeita tuloksia. Mittausjärjestelmä muodostuu muun muassa näytteestä, analyysimenetelmästä sekä mittalaitteesta ja laitteen käyttäjästä. Kaikkia osatekijöitä seurataan laadun varmistamiseksi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 8-9.)

Laboratorioiden laatutyötä ohjaavat laatujärjestelmän luomista tukevat ISO-standardit. Niiden avulla kyetään saamaan kansainvälisesti hyväksytty pätevyys laboratorion testausmenetelmien käyttöön. Lisäksi laatutyötä toteutetaan laboratorion omalla laatukäsikirjalla, sekä sisäisellä laadunohjauksella, ulkoisella laadunarvioinnilla ja esimerkiksi kemiallisten mittausten validoinnilla ja koestuksella. (Jaarinen & Niiranen, 2005 8-9; Linko 1999, 24; Linko 2004, 60; Sorto, Törmä & Kaihola 1996, 3.)

Laitekoestus, joka esitellään käsitteenä luvussa 4, on osa laboratorion laadunvarmistusta. Lyhyesti voidaan kuitenkin todeta, että esimerkiksi kemiallisten määritysmenetelmien kohdalla käytetyn laitteiston soveltuvuus ja suorituskkyky tuottaa luotettavaa tutkimustietoa tulisi varmentaa. Tiedon laatu (*quality*) ja luotettavuus (*reliability*) riippuvat myös käytetyn menetelmän kunnosta, ja siksi laitteiston tekniset ominaisuudet ja niiden toimivuus sekä soveltuvuus käyttötarkoitukseensa tulee selvittää. Tutkimusten tuloksiin voidaan luottaa vain, jos ne on saatu asianmukaisin menetelmin ja ympäröivät tutkimusolosuhteet on varmistettu. (Seiler 2005, 186, 214–215.)

Tässä opinnäytetyössä esitellään laitekoestus yhden määrittelyn osalta. Toimeksiantajana on Kymenlaakson sairaanhoito- ja sosiaalipalvelujen kuntayhtymän (Carea) klini-  
sen kemian ja hematologian laboratorio, jossa on otettu käyttöön uusi kemian analysaat-

tori, Roche Cobas 6000. Analysaattorin toiminta on jo testattu kemiallisten perustutkimusten osalta, mutta tulevaisuudessa olisi tarkoitus laajentaa toimintaa uusilla tutkimuksilla.

Toimeksiantajana olevan kliinisen laboratorion kannalta hyödyllisin uusi tutkimus olisi biologisesti aktiivisen parathormonin määrittäminen paastoplasmaasta. Nykyisin laboratorio joutuu tilaamaan tutkimuksen ulkopuoliselta taholta (Medix laboratoriot), mikä on kallista ja vaatii ylimääräistä työtä muun muassa kuljetusten ja näytteiden käsittelyn takia. Jos määrittäminen suoritetaan laboratorion ulkopuolella, näytteenotto tapahtuu kylmänäytteenottona. Lisäksi näytteen käsittely vaatii kylmäseentrifugoinnin sekä lähettämisen kylmänä tai pakastettuna. Tämä vie aikaa ja rasittaa sekä näyte-erottelijaa että sihteereitä. Uusi tutkimus tehostaisi sairaalalaboratorion toimintaa sekä parantaisi ja monipuolistaisi sen tarjoamaa terveyspalvelua.

Teoreettisessa viitekehyksessä tarkastellaan laite- ja menetelmäkoestusta, parathormonia ja sen elektrokemiluminometrista määrittämenetelmää. Lisäksi käsitellään kliinisen laboratorion laadunvarmistusta.

## 2 PARATHORMONI JA SEN MÄÄRITYS

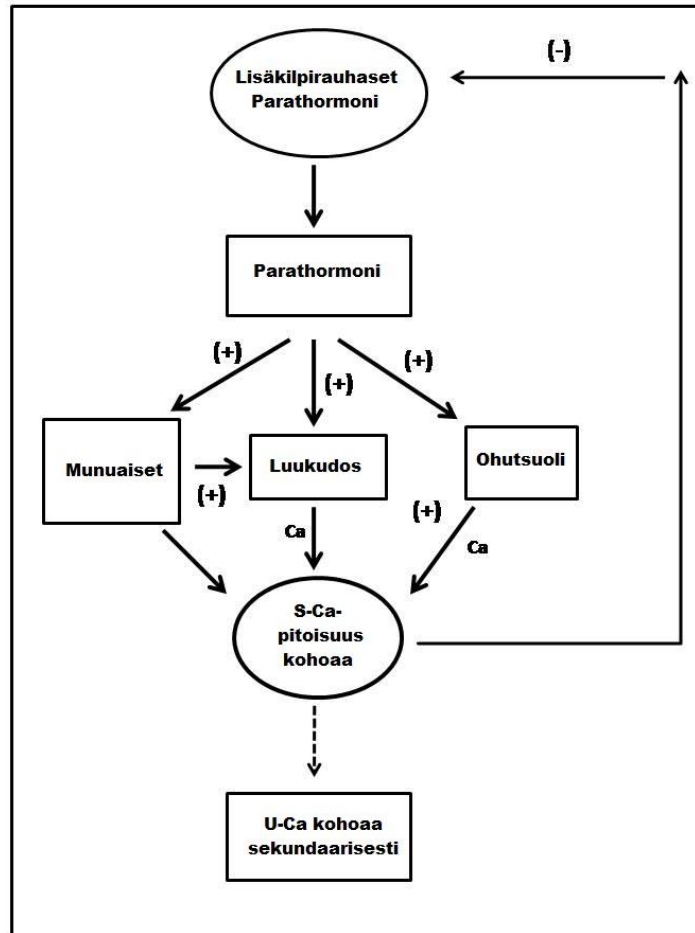
Parathormoni eli PTH on ihmisen neljän lisäkilpirauhasen muodostama ja erittämä peptidihormoni. Hormonin syntetisoitumista ja erittymistä säätelee vapaan kalsiumin määrä veressä ja solunulkoisissa nesteissä. Vapaan kalsiumin havaitsevat lisäkilpirauhassolujen pinnalla olevat reseptorit, jotka aktivoivat tai estävät parathormonin tuottoa. Vapaan kalsiumin runsaus plasmassa estää hormonin syntetisoitumisen ja vapautumisen soluista, kun taas kalsiumin vähentyminen johtaa lisääntyneeseen tuottoon ja eritykseen. Hormonin ja vapaan kalsiumin välillä vallitsee siis käänteinen riippuvuus. (Endres & Rude 2008, 721-722; Rhoades & Pflanzner 2003, 817.)

Parathormonin tehtävänä elimistössä on huolehtia kalsium-tasapainosta säätelemällä kalsiumin kulkua solukalvojen läpi (Arstila, Björkqvist, Hänninen & Nienstedt 2004,

388; Penttilä 2004, 129). Elimistössä suurin osa kalsiumista esiintyy luustossa ja pienempinä pitoisuuksina pehmytkudoksessa ja solunulkoisissa nesteissä. Suurin osa veren kalsiumista on plasmassa, jossa sitä esiintyy kolmessa eri muodossa. Kalsiumista noin 50 % on vapaassa (ionisoituneessa) muodossa, 40 % sitoutuneena plasman proteiineihin ja 10 % anionikomplekseina, fosfaattiin ja sitraattiin sitoutuneena. Vapaa kalsium on kalsiumin biologisesti aktiivinen muoto, jonka pitoisuutta plasmassa parathormoni säätelee. (Endres & Rude 2006, 1892–1893.) Aktiivisessa muodossa olevan kalsiumin riittävä pitoisuus plasmassa (fP-Ca-Ion: 1,16–1,30 mmol/l) on elintärkeää sen osallistuessa muun muassa hermojen kalvojännitteen ylläpitoon ja hermoimpulssien normaaliin kulkuun (Rhoades & Pflanzner 2003, 808, 819; Mustajoki & Kaukua 2008). Muita kalsiumin tehtäviä elimistössä ovat, riippuen siitä onko kyseessä solun ulkoinen vai solun sisäinen kalsium, solun sisäisen kalsiumin säätely, luun mineralisaatio, veren hyytyminen sekä lihasten supistuminen ja solujen jakautuminen (Endres & Rude 2006, 1893).

Parathormonin toiminta elimistössä perustuu sen ominaisuuksiin peptidi – eli proteiinihormonina. Se vaikuttaa useimmiten solujen solukalvoihin, mutta myös solunsisäisten organellien, kuten mitokondrioiden kalvoihin. (Arstila ym. 2004, 370, 388.) Vaikutus on mahdollinen kohdekudosten solujen pinnalla olevien parathormonille spesifisten G-proteiini-kytkentäisten reseptoreiden (PTHrP/PTH1R) sekä syksilisen adenosini-monofosfaatin (cAMP) toiminnan ansiosta. Parathormonille spesifisiä reseptoreita esiintyy eniten luukudoksessa ja munuaisissa, joihin sitoutumalla parathormoni pyrkii säätelemään elimistön kalsiumtasapainoa (kuvio1). Kohdekudoksissa PTH reagoi PTHrP-reseptoreiden kanssa aiheuttaen sarjan solunsisäisiä reaktioita, mukaan lukien cAMP:n tuoton. cAMP toimii toisiolähehtinä ja hormonin viestin välittäjänä solukalvon kautta sisälle soluun. (Endres & Rude 2006, 1914; Gardella & Jüppner 2000, 317.) Välitetty viesti johtaa jatkossa muun muassa kalsiumin vapautumiseen luustosta plasmaan ja imeytymiseen munuaisista takaisin verenkiertoon (Gardella & Jüppner 2000, 317; Rhoades & Pflanzner 2003, 820). Lisäksi parathormoni vaikuttaa munuaisissa lisäämällä D-vitamiinin aktiivisen metaboliitin (1,25-OH-vitamiini D<sub>3</sub>) tuottoa, mistä puolestaan seuraa kalsiumin lisääntynyt imeytyminen ohutsuolesta verenkiertoon (Isales 2009, 31; Rhoades & Pflanzner 2003, 820).

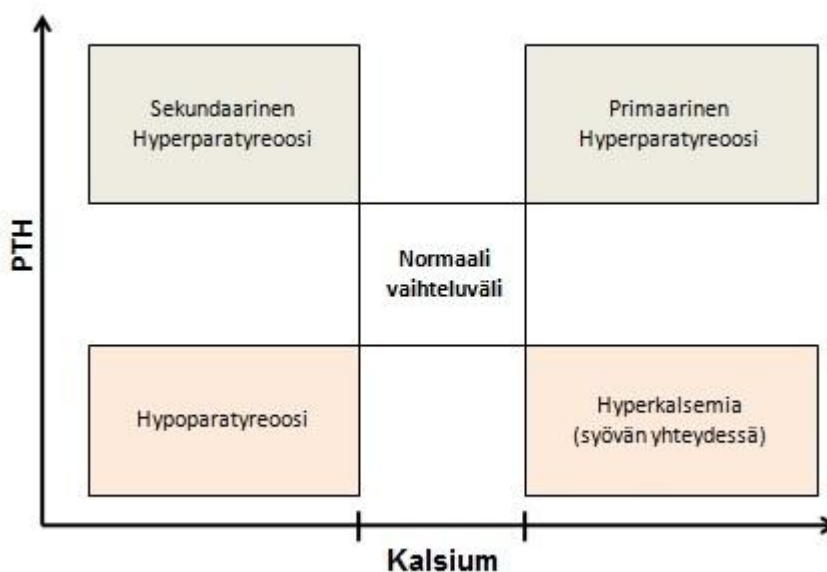




Kuvio 1. Parathormonin vaikutus elimistön kalsiumtasapainoon. Kuvio on piirretty mallista (Penttilä 2004, 129).

## 2.1. Parathormonimäärityksen kliininen merkitys

Parathormonin viitearvo on Medixin ohjekirjan mukaan 1.0 - 7.5 pmol/l, mutta tulos on suhteutettava elimistön vallitsevaan kalsiumpitoisuuteen (Yhtyneet Medix laboratoriot 2011). Parathormonin eli PTH:n määrittystä käytetäänkin ensisijaisesti kalsiumaineenvaihdunnan häiriöiden diagnostiikassa. Häiriöitä ovat hyper- ja hypokalsemia, jotka voivat olla seurausta hyper- ja hypoparatyreoosista. (Endres & Rude 2008, 722–723.) Kuviossa 2 on esitelty parathormoni- ja kalsiumpitoisuuksien välisen suhteen muutokset edellämainittujen häiriöiden yhteydessä.



Kuvio 2. Parathormonin erittymisen ja kalsium-pitoisuuden välinen suhde sairauksissa, jotka aiheuttavat vaihtelua pitoisuuksien riippuvuussuhteessa. Kuvio piirretty mallista (Klemm & Klein 2007, 179).

Hyperkalsemialla tarkoitetaan tilaa, jossa kalsiumin määrä veressä lisääntyy ja plasman ionisoidun eli aktiivisessa muodossa olevan kalsiumin pitoisuus ylittää 1,30 mmol/l (Sane 2011; Mustajoki 2010). Oireita ovat esimerkiksi väsymys, ruokahaluttomuus ja vatsavaivat sekä osteoporoosi (Mustajoki 2010). Syynä hyperkalsemiaan voi olla primaarinen tai sekundaarinen hyperparatyreoosi, jolloin lisäkilpirauhaset tuottavat liikaa parathormonia. Primaarinen hyperparatyreoosi on usein seurausta yhden tai useamman lisäkilpirauhasen liikakasvusta tai hyvänlaatuisesta kasvaimesta. Sekundaarisen hyperparatyreoosin sen sijaan aiheuttaa usein lisäkilpirauhasten ulkopuolinen syy, kuten D-vitamiinin puutos tai krooninen munuaistauti. (Björkman 2010, 25, 30.) Primaarinen hyperparatyreoosi johtuu heikentyneestä vasteesta veren kalsiumpitoisuuden ja parathormonierityksen välillä, kun taas sekundaarinen hyperparatyreoosi on seurausta PTH-pitoisuuden noususta johtuen veren kalsiumpitoisuuden pienenemisestä (Björkman 2010, 25, 30; Kauppinen-Mäkelin 2010; Klemm & Klein 2007, 176–177).

Hypokalsemiassa on kyse veren alhaisesta kalsiumpitoisuudesta, jolloin oireita alkaa usein esiintyä ionisoituneen kalsium-pitoisuuden ollessa alle 0,8-0,9 mmol/l (Sane 2005; Mustajoki 2011). Tyypillisiä ovat ääreishermoston toiminnassa ilmenevät oireet

kuten raajojen puutuminen ja lihaskrampit (Mustajoki 2011). Hypokalsemiaan johtaa muun muassa hypoparatyreoosi, jossa parathormonia esiintyy liian vähän ja joka useimmiten on seurausta kilpirauhasten tai lisäkilpirauhasten leikkauksesta. (Björkman 2010, 24; Penttilä 2004, 127,129,130; Smith & Stack 2009, 192.) Hypoparatyreoosista johtuvassa hypokalsemiassa muun muassa parathormonin vaikutus munuaisiin puuttuu, jolloin kalsiumia erittyy virtsaan enemmän kuin veren kalsiumpitoisuus sallisi (Sane 2005).

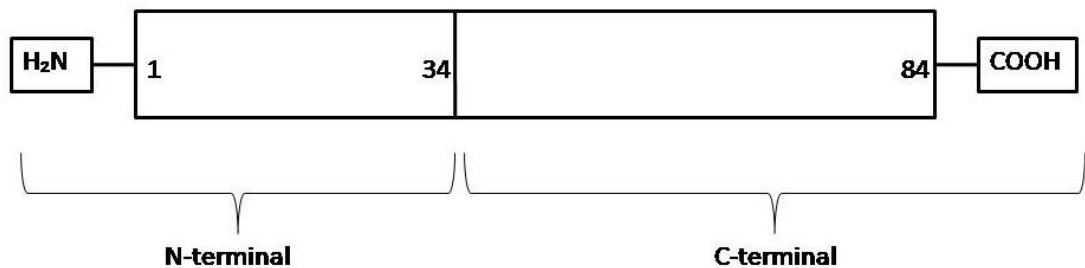
## 2.2 Parathormonimääritys ECL-menetelmällä

Immunomäärityksissä, kuten Cobaksen parathormonimäärityksessä, käytetään vasta-aineita, jotka ovat valikoivia tietyille kohteilleen näytteessä. Ne pyrkivät sitoutumaan selektiivisesti muun muassa kohdemolekyyleihin tai -hormoneihin. Pelkästään näytteen sisältämän analyytin sitominen ei kuitenkaan riitä, vaan pitoisuuden saamiseksi selville näytteestä on luotava mitattava signaali. Siksi sitovien vasta-aineiden lisäksi määrityksissä esiintyy leimattuja vasta-aineita, jotka synnyttävät analyyttipitoisuuden paljastavan signaalin. Signaalin muodostuminen riippuu immunomäärityksen käyttämästä menetelmästä. (Davies 2005, 3-5.) Parathormonin elektrokemiluminometriaa hyödyntävä immunomääritys (ECL) sisältää neljä vaihetta: I ja II inkubaation, pesuvaiheen ja kemiluminesenssi-reaktion (Roche Cobas menetelmäohje 2010). Määrityksen vaiheet on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. ECL-määritys vaihe vaiheelta (Roche Cobas PTH menetelmäohje 2010).

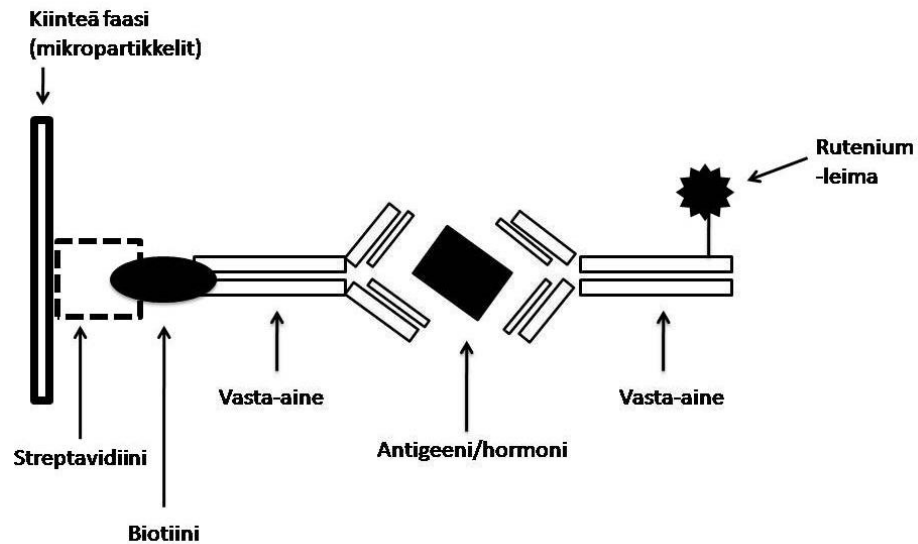
Vaihe	Tapahtuma
1.	I Inkubaatio: Vasta-aine-antigeeni-vasta-aine-kompleksi (sandwich)
2.	II Inkubaatio: Streptavidini ja biotiini – reaktio eli sandwich-kompleksien kiinnittyminen kiinteään faasiin ja sitoutumattomien vasta-aineiden erottelu sitoutuneista
3.	Pesu: Immunokompleksit jäävät jäljelle
4.	Kemiluminesenssi-reaktio: Immunokompleksien määräys/PTH-pitoisuus

1) Ensimmäisessä inkubaatiossa näytteen sisältämä parathormoni ja reagenssien sisältämät leimatut vasta-aineet muodostavat keskenään vasta-aine-antigeeni- vasta-aine – kompleksin, jota voidaan kutsua myös sandwich-kompleksiksi (Cobas PTH menetelmäohje 2011). Vasta-aineita menetelmässä on kaksi, ja niiden tarkoituksena on sitoutua selektiivisesti eri osiin parathormonia. Biotiinileiman sisältävä vasta-aine reagoi hormonin amino(N)-terminaalisen osan ja ruteniumilla leimattu vasta-aine karboksyyli(C)-terminaalisen osan kanssa. (Roche Cobas PTH menetelmäohje 2010; Hermesen, Franzson, Hoffmann, Isaksson, Kaufman, Leary, Müller, Nakatsuka, Nishizawa, Reinauer, Riesen, Roth, Steinmüller, Troch & Bergmann 2002, 132.) Parathormonin rakenne ja vasta-aineiden sitoutumiskohdat on esitetty kuviossa 3.



Kuvio 3. Parathormonin rakenne: amino(N)-terminaalinen pää ja aminohapot 1-34 sekä karboksyyli(C)-terminaalinen pää ja aminohapot 36–84. Kuvio piirretty mallista (Endres & Rude 2005, 1915–1916).

2) Toisessa inkubaatiossa näytteeseen lisätään streptavidiinilla päällystettyjä mikropartikkeleita (Roche Cobas PTH menetelmäohje 2010). Streptavidiini on voimakkaasti biotiinia (vesiliukoinen vitamiini) sitova proteiini (Kricka & Wild 2005, 205 387). Mikropartikkelit taas toimivat kiinteänä faasina, jonka tarkoituksena on erotella sitoutumatomat vasta-aineet sitoutuneiden muodostamista komplekseista (Kricka 2008, 168). Inkubaation aikana vasta-aine-antigeeni-vasta-aine – kompleksit kiinnittyvät kiinteään faasiin biotiinileiman ja streptavidiinin reagoidessa keskenään (Cobas PTH menetelmäohje 2011; Myers 2005, 387). Kuviossa 2 havainnollistuu biotiinileiman ja kiinteän faasin välinen reaktio.

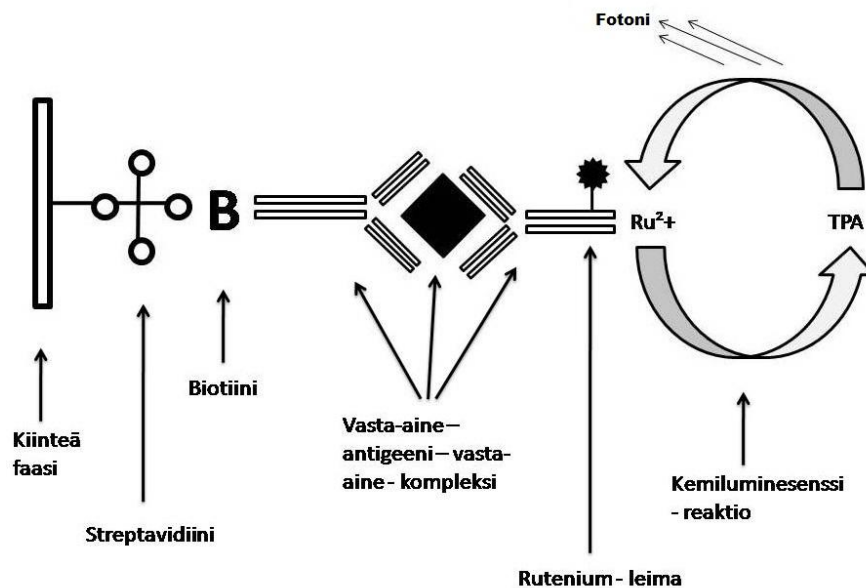


Kuvio 4. Vasta-aine – antigeeni- vasta-aine – kompleksin kiinnittyminen kiinteään faasiin streptavidini-biotiini teknologian avulla. Kuvio piirretty mallista (Myers 2005, 388).

3) Pesuvaiheessa analysaattori pipetoi näytteen mittauskyvetiin, jossa mikropartikkelit vedetään magneettisesti näyteastian (kyvetin) seinämään. Pesuliuosta käyttämällä analysaattori huuhtelee mikropartikkeleihin sitoutumattomat vasta-aineet näytteseoksesta. (Cobas PTH menetelmäohje 2011.) Samalla näyteastian seinämään vedetyt mikropartikkeleihin sitoutuneet sandwich – kompleksit saatetaan lähelle elektrodia, johon viritetty sähköinen jännite saa aikaan kemiluminesenssi-reaktion (Cobas PTH menetelmäohje 2011; Myers 2005, 388; Kricka 2008, 168).

Kemiluminesenssi-reaktio saadaan aikaiseksi menetelmässä käytetyn rutenium-leiman ( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ) ja tripolyamiinin (TPA) avulla, joista kumpikin on elektrokemiallisesti aktiivinen aine. Sandwich-kompleksit tuodaan siis magneettisesti lähelle elektrodia, jonka sähköinen jännite saa rutenium -leiman luovuttamaan elektronin ja hapettumaan. TPA sen sijaan luovuttaa sähköisen potentiaalin vaikutuksesta yhden elektronin ja lopulta yhden protonin päätyen radikaaliin muotoonsa. Tämä TPA-radikaali ja hapettunut ruteniumi reagoivat keskenään, jolloin TPA luovuttaa elektronin ruteniumille saaden leiman virittymään. Tämän virityksen purkautuessa vapautuu yksi fotoni, joka mitataan valomonistinputken eli valon sähkösingnaaliksi muuttavan komponentin avulla. (Myers 2005, 388–389; Ashihara, Kasahara & Nakamura 2007, 810; Kricka 2008, 168; Jaarinen & Niiranen 2005, 57.) Purkautumisen jälkeen rutenium – leima palaa perusmuotoonsa

ja on valmis osallistumaan toistuviin valonmuodostussykleihin (Myers 2005, 389). Kuviossa 3 on esitetty kemiluminesenssireaktio pelkistetyksi.



Kuvio 3 Kemiluminesenssireaktio. Kuvio piirretty mallista (Myers 2005, 389).

### 3 KLIINISEN LABORATORION LAATU

Laatu kuuluu yhtenä tärkeimpänä tavoitteena hyvään kliiniseen laboratoriokäytäntöön (Linko 2004, 60). Laboratoriotoiminnan laadunhallinnan päämääränä onkin taata potilaan tilaa mahdollisimman hyvin kuvaava laboratoriotulos. Tällöin pystytään tekemään luotettavia johtopäätöksiä potilaan terveydentilasta ja sen muutoksista sairaudesta tai sen hoidosta johtuen. (Seppälä & Tuokko 2010, 24.) Ennen menetelmän käyttöönottoa suoritettavat koeanalysoinnit tukevat laatutyötä. Lisäksi tulostasoa tulee seurata jatkossa rutiinianalytiikassa eli päivittäisissä analyysitilanteissa, ja näin varmistaa tulostason pysyvyys. Laadunarvioinnin ja -hallinnan voidaan katsoa toteutuvan, kun sekä tästä sisäisestä laadunohjauksesta että ulkoisesta laadunarvioinnista saadut tulokset ovat hyväksyttävissä rajoissa. (Linko 2004, 60.) Alaluvuissa tarkastellaan lyhyesti mittausepävarmuutta, jonka arvioiminen on yksi laboratorion pätevyyskriteerin edellytys (Siloaho, Elg, Leppänen, Loikkanen, Puukka, Ruopuron & Saarmala 1997, 196). Lisäk-

si käsitellään laboratorion laadunhallintaa kontrollinäytteiden käytön, laboratorion sisäisen laadunohjauksen sekä ulkoisen laadunarvioinnin osalta.

### 3.1 Mittausepävarmuuden arviointi

Mittausepävarmuus on arvio niistä rajoista, joiden sisälle mittaustulosten oletetaan tietyllä todennäköisyydellä asettuvan (Ehder 2005, 19). Analyyttisen ja kliinisen kemian laadunvarmistussanastossa mittausepävarmuus on määritelty mittaustulokseen liittyväksi parametriksi, joka osoittaa mitattavaan suureeseen vaikuttavan arvojen hajonnan (Eurachem 1997, 54). Mittausepävarmuuden arviointi antaa siis tietoa tulosten todellisista vaihtelurajoista ja on täten hyödyllinen helpottamaan muun muassa tulosten poikkeavuuden arvioimista. Arvioinnin ideana on tiedostaa epävarmuutta aiheuttavat tekijät, jolloin niiden vaikutus on minimoitavissa tarpeen niin vaatiessa. (Siloaho ym. 1997, 196.)

Mittausepävarmuuden arviointi voi tapahtua käyttämällä muun muassa kokeellisesti kerättyä määrällistä tietoa, kirjallisuutta, validoinnista saatua tietoa, ulkoista laadunarviointiohjelmaa tai kokeneen kemistin antamaa arviota. Kontrollinäytteiden tulokset kattavat usein monet määrittelyyn liittyvät epävarmuustekijät, mutta ovat hyödyttömiä arvioitaessa sellaisia vaihtelua aiheuttavia preanalyttisiä tekijöitä kuin näytteenotto, näytteen käsittely tai säilytys. Edellä mainitut tekijät ovat muutenkin epävarmuuden kannalta vaikeasti mitattavissa. Vakioinnilla ja tarkalla ohjeistuksella niiden vaikutus on kuitenkin mahdollista minimoida, jolloin niiden huomioiminen kokonaisepävarmuutta arvioitaessa ei aina ole välttämätöntä. (Siloaho ym. 1997, 197.)

Mittausepävarmuuden arviointiin liittyy epävarmuutta aiheuttavien tekijöiden jaottelu systemaattisiin ja satunnaisiin tekijöihin. Systemaattisia tekijöitä ovat muun muassa käytössä oleva menetelmä ja sen vakiointi, näytteenotto, tiedon käsittely ja laitteen käyttö. Edellämainittuihin liittyviä virheitä voidaan edelleen kutsua systemaattisiksi virheiksi. Niille on ominaista, että ne ovat korjattavissa, eivätkä ne sinänsä ole epävarmuutta aiheuttavia. Satunnaisista tekijöistä aiheutuvaa satunnaisvaihtelua ei voida sen sijaan kokonaan poistaa, joskin sen vähentäminen on mahdollista. Satunnaisepävarmuutta voi esiintyä muun muassa erilaisten yksilöllisten työtapojen, määritysolosuhteiden vaihtelun, näytteen käsittelyn ja tulosten laskennan seurauksena. (Siloaho ym. 1997, 197.)

Systemaattinen virhe ( $\Delta SE$ ) tarkoittaa poikkeamaa (bias), joka on oletetun mittaustuloksen ja sovitun arvon välinen ero (Ehder 2005, 30). Systemaattisen virheen aiheuttaa jokin aineiston keräykseen liittyvä tekijä, joka vaikuttaa koko aineistoon samansuuntaisesti (Heikkilä 2004, 186; Jaarinen & Niiranen 2005, 34). Kyse voi olla muun muassa laiteviasta, jonka vaikutusta voidaan arvioida tarkastelemalla mittaustulosten oikeellisuutta, jolla tarkoitetaan tulosten keskiarvon ja todellisen arvon yhtäpitävyyttä. Käytännössä tämä voidaan toteuttaa analysoimalla vertailumateriaaleja, eli tunnetun pitoisuuden omaavia näytteitä, ja käyttämällä saatuja tuloksia mittaustulosten ja sen antamien tulosten oikeellisuuden arviointiin. (Jaarinen & Niiranen 2005, 12, 34, 36.)

Satunnaisvirhe ( $\Delta RE$ ) on ennustamaton, sitä esiintyy kaikissa analyyseissä ja se liittyy tarkkuuteen (Jaarinen & Niiranen 2005, 32; Heikkilä 2004, 185). Satunnaisvirhe voidaan minimoida työskentelyn huolellisuudella sekä vakioituilla olosuhteilla. Usein satunnaisvirhe vaikuttaa pienentämällä tai suurentamalla tuloksia, mutta suorittamalla riittävä määrä rinnakkaisia määrittäyksiä saadaan mittausten keskiarvo lähenemään oikeaa arvoaan. Satunnaisvirheen suuruutta voidaan arvioida toistomittauksin ja laskemalla tulosten keskihajonta ja variaatiokerroin. (Jaarinen & Niiranen 2005, 32.)

Molemmat, sekä systemaattinen että satunnaisvirhe, vaikuttavat mittauksen tarkkuuteen. Tarkkuus on termi, jota käytetään kuvaamaan menetelmän suorituskkyä sekä mitatun arvon ja todellisen arvon yhteensopivuutta. Tarkkuus ilmaistaan usein mittaustulosten keskiarvo  $\pm$  pitoisuus, eli sillä välillä, jolle tulokset tietyllä todennäköisyydellä asettuvat. Useimmiten käytetään 99 prosentin tai 95 prosentin luotettavuustasoa. (Jaarinen & Niiranen 2005, 12.) Virheiden havaitsemisen yhteydessä käytetään myös termiä ”virheiden havaitsemistodennäköisyys”, joka kertoo millä todennäköisyydellä muutokset suoritustasossa tulisi havaita. Yleensä havaitsemistodennäköisyyden tulisi olla 90–95 prosenttia. (Sorto, Törmä & Kaihola 1996, 10.)

### 3.2 Kontrollinäytteet

Kontrollinäytteet, joista voidaan käyttää myös nimityksiä kontrolli ja laaduntarkkailunäyte, ovat perusta kliinisen kemian kontrollijärjestelmässä (Petersen & Dreyer 1994,



7). Kontrollinäytteet, jotka ovat tunnetun pitoisuuden omaavia potilasnäytteiden kaltaisia liuoksia, analysoidaan kuten potilasnäytteet. Saatujen kontrollitulosten perusteella arvioidaan menetelmän tulostason pysyvyys ja potilasnäytteiden analysoinnin laatu (Jaarinen & Niiranen 2005, 25; Petersen & Dreyer 1994, 7). Arviointi perustuu kontrollinäytteille laadittuun kontrollisääntöön, jonka mukaan kontrollinäytteestä saadun arvon tulee asettua tiettyjen rajojen sisälle (Sorto ym. 1996, 12). Jos pitoisuusarvo osuu viite-rajoiden ulkopuolelle, periaatteena tulisi olla mittausarjan potilasnäytetulosten hylkääminen tai ainakin niiden hyväksyttävyyden arvioiminen. (Petersen & Dreyer 1994, 9; Sorto ym. 1996, 12.) Myös analysaattorin kalibrointi, eli mittauslaitteiston toimintakunto ja kyky mitata valittuja analyyttejä, tulisi tarkistaa, mikäli laaduntarkkailunäytteistä saadut tulokset eivät asetu sallitulle vaihteluvälille (Jaarinen & Niiranen 2005, 18–25).

Kontrollinäytteitä käyttämällä pyritään selvittämään alaluvussa 3.1 esitellyjä systemaattisia ja sattunnaisia virheitä ja täten koko mittausjärjestelmän suoritustasoa. Kuntajärjestelmä toimii normaalisti, esiintyy normaalivaihtelua, mutta tulokset asettuvat silti todellisen arvon ympärille ja kuvastavat normaalia hajontaa. Systemaattisen tai satunnaisen virheen ilmetessä virheen voidaan yksinkertaistaen ajatella johtuvan joko tulostason siirtymästä tai kasvaneesta tulosten hajonnasta. Näiden virheiden havaitsemiseksi on laadittu kontrollisäännöt, jotka valikoituvat laboratorion omien tarpeiden mukaisesti. (Sorto ym. 1996, 10–12.) Yksinkertaisin ja yleisin sääntö on käyttää  $\bar{x} \pm 2s$  rajoja, jossa  $\bar{x}$  on laboratorion saamista tuloksista laskettu keskiarvo ja  $s$  tulosten keskihajonta. Säännön mukaan hyväksyttävät tulokset asettuvat välille  $\bar{x} \pm 2s$ , rajojen ylittävät tulokset sen sijaan hylätään. (Sorto ym. 1996, 12; Petersen & Dreyer 1994, 9.)

### 3.3 Sisäinen laadunohjaus

Sisäinen laadunohjaus on määriteltävissä sellaiseksi toiminnaksi, joka sisältää laboratoriohenkilökunnan suorittamat valvontatoimenpiteet laboratorion annettavien tulosten riittävän luotettavuuden takaamiseksi (Eurachem 1997, 37). Linko määrittelee sisäisen laadunohjauksen tavoitteeksi varmistaa potilastulosten oikeellisuus ja niiden hyväksyminen lääkärin käyttöön (Linko 2004, 60). Oikeellisuus on määritelty kirjallisuudessa

tulosten keskiarvon yhtäpitävyydeksi sovitun tosiarvon kanssa, kun mittauksia suoritetaan useita (Eurachem 1997, 54).

Sisäinen laadunohjaus toteutetaan usein kontrollinäytteillä (Sorto ym. 1996, 6). Käytettävän analyysimenetelmän suorituskkyä seurataan kontrollinäytteiden päivittäisellä analysoinnilla ja tuloksia käytetään toistuvuudessa eli tulosten vastaavuudessa ja tulos-tasossa mahdollisesti tapahtuvien muutosten havaitsemiseen (Linko 2004, 60). Kontrollinäytetuloksien perusteella tulisi myös päätellä, pitääkö analyysisysteemiä korjata, voi-daanko mittaussarjan eli analysoitujen näytteiden tulokset hyväksyä vai pitäisikö ne hylätä. Lisäksi tulisi arvioida menetelmän ja laitteen suoritustatasoa ja verrata sitä ana-lyyttisiin laatutavoitteisiin. Analyttiset laatutavoitteet on määritelty analyysitulosten hajonnalle ja kokonaisvirheelle asetetuiksi raja-arvoiksi, joiden sisälle analyysitulosten tulisi asettua laboratorion suoritustason laadun takaamiseksi. (Sorto ym. 1996, 5, 6.)

Osa sisäistä laadunohjausta on myös riittävä dokumentointi. Sen tulisi kattaa muun mu-assa laadunohjauksen menettelytavat, kontrollinäytteiden analysoinnissa havaitut poik-keamat ja kontrollien säilyvyys-, säilytys- ja esikäsittelytiedot (Linko 2004, 60–62).

### **3.4 Ulkoinen laadunarviointi**

Ulkoinen laadunarviointi on laboratorion ulkopuolisen toimeksisaajan suorittamaa tu-losten tarkastelua. Objektiiviseen arviointiin sisältyvät tietyin väliajoin suoritettavat vertailut eri laboratorioiden välillä ja pyrkimyksenä on varmistaa tulosten oikeellisuus. (Eurachem 1997, 36.) Esimerkkinä ulkoisesta laadunarviointikierroksesta voidaan mai-nita Labquality Oy:n järjestämät vertailumittaukset, jotka ovat vapaaehtoisuuteen perus-tuvia ja jotka toteutetaan analysoimalla laboratorioon toimitettuja näytteitä tai valmistei-ta, joiden pitoisuusarvot eivät ole laboratorion tiedossa. Vertaamalla oman laboratorion saamia analyysituloksia muiden saamiin arvoihin voidaan arvioida omien analyysime-netelmien tulostaso sekä kotimaisella että kansainvälisellä tasolla. (Penttilä 2005, 38.) Lisäksi voidaan tutkia laboratorioiden välisiä eroja mittausmenetelmien toistuvuudessa ja uusittavuudessa (Jaarinen ja Niiranen 2005, 12, 40). Toistuvuus ja uusittavuus on termeinä selitetty kappaleen 4 alaluvuissa 4.3 ja 4.6.

## 4 MENETELMÄ- JA LAITEKOESTUS

Laitekoestus on määritelty prosessikokonaisuudeksi, jonka tarkoituksena on varmentaa mittauslaitteiston sopivuus ja sovittujen sääntöjen mukainen toimivuus (Eurachem 1997, 15). Koestus voidaan linkittää sellaiseen laajempaan käsitteeseen kuin menetelmävalidointi. Näiden kahden erottaminen toisistaan voikin olla problemaattista. (Linko 1999, 24.) Validointi on kiteytetty tiettyjen käyttöä koskevien erityisvaatimusten täyttymiseksi, kun arvioidaan tutkimuksen avulla kerättyä objektiivista todisteaineistoa (Eurachem 1997, 55). Linko toteaa kuitenkin, että validoinnin luonteesta riippuen, se voi paljonkin poiketa koestuksesta. Siksi olisikin tärkeää hyvissä ajoin suunnitella ja dokumentoida, mitä tehdään ja millä laajuudella; eli mitä asioita olisi otettava huomioon menetelmän laatutavoitteiden täyttämiseksi. Vakiintuneissa menetelmissä pienemmällä näytemäärällä pystytään toteamaan menetelmän toimivuus ja vertailtavuus aiempaan menetelmään, mutta uuden tutkimuksen koestus ja mahdollinen käyttöönotto vaativat jo laajempaa tarkastelua. (Linko 1999, 24.)

Suomalainen koestusmalli antaa rakenteen koestukselle, joka muodostuu kahdesta toiminnallisesta vaiheesta. Ensimmäinen niistä on tutustumisjakso, jonka aikana suoritetaan pilottitutkimus. Toinen vaihe on varsinainen koestus. Kolmanneksi vaiheeksi voidaan lisätä pohdinnallinen osio: saatujen koetulosten ja menetelmän soveltuvuuden arviointi. (Kaiholan, Rintola & Sandbacka 1990, 176–181.)

### 4.1 Tutustumisjakso eli pilottitutkimus

Ennen varsinaista tutustumisjaksoa koestuksen suoritukseen käytettävään analysaattoriin tulisi perehtyä huolella. Perehdytyksen tulisi tapahtua ainakin osittain laitetta edustavan henkilön toimesta. Lisäksi käytössä tulisi olla koko koestuksen ajan oleelliset analysaattorin käyttö- sekä huolto-ohjeet ja muu laitedokumentaatio. (Kaiholan ym. 1990, 176.)

Tutustumisjakson aikana on tarkoituksena analysoida pienemmällä näytemäärällä se sovellus, jota tullaan tutkimaan myös varsinaisen koestuksen yhteydessä. Lisäksi tulisi

tutkia myös tavallisimmat tutkimusvalikoimaan kuuluvat menetelmät. Potilasnäytteiden lisäksi pilottitutkimuksessa analysoidaan kontrollinäytteet, joiden tulostaso on matala, keskitaso ja korkea. Matalan tason tulisi asettua viitevälin alarajalle, keskitason viitearvoalueelle ja korkean pitoisuustason lähelle viitearvojen ylärajaa. Laaduntarkkailunäytteet analysoidaan jokaista mitattua sarjaa kohden kymmenen kertaa. Sarja toistetaan minimissään kaksi kertaa ja jokaisen mittausarjan välillä analysaattori sammutetaan. Uudelleenavaamisen jälkeen tulisi suorittaa laitevalmistajan ilmoittamat alkutoimenpiteet. Lisäksi valitun menetelmän taso tutkitaan analysoimalla kymmenen vaihtelevan pitoista potilasnäytettä yksittäismäärytyksinä. Näitä tuloksia tulisi sitten vertailla vertailumenetelmällä saatuihin tuloksiin. (Kaiholan ym. 1990, 176–177.)

Tutustumisjaksolla saadut tulokset kirjataan muistiin ja lasketaan sekä merkitään ylös laaduntarkkailunäytteiden pitoisuuksien vaihteluväli, keskiarvo, keskihajonta (SD) ja variatioprosentti (CV %). Vaatimuksena on, että menetelmän toistettavuus on hyväksyttävissä. Saatujen tulosten ja tulostason arvioinnin perusteella siirrytään varsinaiseen koestukseen. (Kaiholan ym. 1990, 177.)

## 4.2 Koestus

Tutustumisvaihetta seuraavan varsinaisen koestuksen tarkoituksena on antaa riittävä kuva analysaattorin ominaisuuksista ja toiminnasta (Kaiholan ym. 1990, 177). Ennen menetelmän käyttöä sen toimintakyky onkin testattava. Laitteen toimintakuntoa testataan koestuksessa vakioinnilla ja varsinaisella koestuksella. (Kaiholan ym. 1990, 177; Jaarinen & Niiranen 2005, 18.)

Vakiointi toteutetaan joko primaarivakioita tai sekundaarivakioita käyttämällä (Kaiholan ym. 1990, 177). Primaarivakiolla tarkoitetaan liuosta, joka sisältää tunnetun määrän mitattavaa yhdistettä. Sekundaarivakio on mittanormaali, jonka arvo on selvitetty primaarivakioon vertailemalla. (Eurachem 1997, 34, 46.) Vakioista voidaan puhua myös niin sanottuina vertailumateriaaleina, joiden käyttämisen tarkoituksena on varmistaa käytettävän mittausmenetelmän oikeellisuus ja toistotarkkuus. Vertailumateriaali on määriteltävä sellaiseksi aineeksi, jonka on todettu olevan stabiili, homogeeninen ja analyttipitoisuuksiltaan tunnettu. Vertailumateriaaleja käytetään useimmiten laitteiden

kalibrointiin. Käyttämällä vertalumateriaaleista pitoisuudeltaan erilaisia liuoksia saadaan laadittua menetelmälle ja mittauslaitteelle kalibrointikäyrä. (Ehder 2005, 39, 42.) Kalibrointi on terminä määritelty toimenpiteiksi, joiden avulla saadaan annetuissa olosuhteissa selville mittalaitteen, mittausjärjestelmän ja mittausarvojen välinen yhteys. Kalibrointikäyrä puolestaan kuvaa mittaussignaalin ja määritettävän analyytin arvon välistä yhteyttä eli mittausjärjestelmän antaman signaalin muutosta eri pitoisuusarvojen suhteen. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 18.) Tiivistäen kalibroinnin avulla voidaan arvioida antaako vakioitava laite analysoitavasta vakionäytteestä paikkansapitävän tuloksen (Jaarinen & Niiranen 2005, 18, 20, 25).

Vakio- ja vertailunäytteiden osalta niiden jäljitettävyys on tärkeällä sijalla. Vertailumateriaalien pitäisikin olla jäljitettävissä tarkasti siihen toteutukseen, jonka suhteen sen ominaisarvo on esitetty. Vertailumateriaalien mukana tulisi olla todistus osoittamassa jäljitettävyys ja arvio mittausepävarmuudesta. Usein kemiallisten vertailumateriaalien ominaisarvojen eli tunnettujen pitoisuuksien varmennus perustuu eri laborioiden vertailumittauksissa saaduista tuloksista laskettuihin keskiarvoihin. Mikäli tietoa siitä, miten näihin arvoihin on päästy, ei löydy, voidaan kyseessä olevan vertailumateriaalin kohdalla kyseenalaistaa sen jäljitettävyys. (Ehder 2005, 40–41.)

Koestuksessa kutakin valittua testattavaa menetelmäperiaatetta kohden valitaan yksi tai useampia analyysieja testattavaksi. Koestuksen suorittamiseksi valitaan sata potilasnäytettä, jotka on todettu analyysikelpoisiksi. Näytteiden tulee olla kirkkaita, eikä hemolyysejä tai ikteerisyyttä saa esiintyä. (Kaihola ym. 1990, 177.) Hemolyyssi on punasolujen hajoamisesta ja hemoglobiinin plasmaan vapautumisesta johtuvaa näytteen punaisuutta. Lipemialla tarkoitetaan tilannetta, jossa kiertävän veren tavallista suurempi määrä lipideja aiheuttaa näytteen sameutta. Ikteerisyys, eli näytteen kellertävyys puolestaan johtuu normaalia korkeammasta bilirubiinipitoisuudesta. Edellä mainitut näytteen ulkonäköön vaikuttavat ominaisuudet voivat vaikuttaa virheellisen analyysituloksen saamiseen. (Makkonen & Tuokko 1998, 106–107.)

Näytteen analyysikelpoisuuden arvioinnin lisäksi näytemäärän tulee olla riittävän suuri, jotta analyysit voidaan tarvittaessa uusia sekä testattavalla että vertailumenetelmällä. Analyyttipitoisuuksiltaan näytteiden tulisi edustaa matalaa, keski- sekä korkeaa tasoa. Näytteet on mahdollista kerätä etukäteen, jolloin on huomioitava tutkimuskohtaiset

näytteensäilytykseen liittyvät ohjeet. Myös pakastetut näytteet ovat käyttökelpoisia. (Kaihola 1990, 177–178.)

Päivittäin analysoidaan tietty määrä näytteitä, esimerkiksi 20 kappaletta. Näytteistä tehdään rinnakkaismääritys, jossa näytejärjestys on sattumanvaraisesti asettunut. Määrityksen mahdollista uusimista silmälläpitäen näytteet tulee säilyttää. (Kaihola ym. 1990, 178.)

Koestuksessa analysoitaviksi kontrollinäytteiksi valikoidaan eri pitoisuustasoilta kolme humaani- eli ihmisperäistä näytettä, joiden säilytyksessä on noudatettu annettuja ohjeita. Tutkimusta varten liuotetaan laaduntarkkailunäytteitä tarvittava määrä, sekä yhdistetään ja jaetaan ne pakastusta varten. Eri tasoa edustavista näytteistä suoritetaan vähintään yksi määritys kussakin mittaussarjassa. Kontrollit sijoitetaan analyysisarjaan sattumanvaraisesti. (Kaihola ym. 1990, 178.)

### 4.3 Toistettavuus

Toistettavuus tai toistuvuus on termi, jota käytetään kuvaamaan peräkkäisten mittaustulosten keskihajontaa eli tulosten vaihtelua (Jaarinen & Niiranen 2005, 12). Se kuvaa saman mitattavan suureen toistomittauksista saatujen tulosten keskinäistä paikkansapitävyyttä (Ehder 2005, 37). Toistettavuus saadaan selville analysoimalla tutkittavat näytteet käyttämällä samoja laitteita ja menetelmiä sekä laskemalla tuloksille tilastoarvot keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin. (Jaarinen & Niiranen 2005, 12.)

Toistettavuus on jaettavissa sekä sarjan sisäiseen että päivästä toiseen toistettavuuteen. Sarjan sisäinen toistettavuus selvitetään määrittämällä potilasnäytteistä rinnakkaismääritykset ja laskemalla tilastoarvot jokaiselle kolmelle tulostasolle (matala, keskitaso, korkea) erikseen. Päivästä toiseen toistettavuus testataan analysoimalla useamman päivän aikana kolmen pitoisuustason laaduntarkkailunäytteet ja laskemalla niillekin keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin. (Kaihola ym. 1990, 178.) Määritysten toistolla on mahdollista minimoida esimerkiksi työskentelystä johtuva satunnaisvirhe, joka on ennustamaton osa kaikkia analyysejä. Satunnaisvirhe (random error) voi pienentää tai suurentaa tulosta, mutta suorittamalla riittävän monta mittausta saadaan keskiarvo lähesty-

mään oikeaa arvoa. Toistomittausten määrä on aina ilmoitettava, jotta tunnuslukujen tilastollista luotettavuutta voidaan arvioida. (Jaarinen & Niiranen 2005, 32,34.)

#### **4.4 Päivänaikainen liukuma ja siirtymävirhe**

Päivän aikana mahdollisesti tapahtuva analyysitulosten liukuma tulee selvittää laitteen stabiilisuuden ja reagenssien säilyvyyden toteamiseksi. Mittaukset suoritetaan yhden työpäivän aikana laaduntarkkailunäytteillä, joita on voitu jo aiemmin koestuksen aikana käyttää. Jokaisella mittauskerralla käytettyjen näytteiden tulee kuitenkin olla tuoreita niin, että samaa sulatettua laaduntarkkailunäytettä ei analysoida yhtä kertaa useammin. Näytteet analysoidaan ainakin 12 kertaa puolen tunnin välein. Ensimmäisellä mittauskerralla näyte analysoidaan viidesti, mutta muilla kerroilla riittää yksi mittaus näytettä kohti. (Kaihola ym. 1990, 179.)

Siirtymävirhe arvioidaan, mikäli näytekontaminaatio on mahdollinen johtuen analyyttipitoisuuden pipeteistä, letkujen nestevirtauksista tai mittaustapahtumasta. Näytteinä voidaan käyttää laaduntarkkailunäytteitä, joiden pitoisuuksien tulee olla tasoa matala ja korkea niin, että pitoisuusero on yli kymmenkertainen tai että matalat ja korkeat pitoisuudet sijoittuvat numeerisen mittausalueen äärialueille. (Elo & Mörsky 1990, 172.)

#### **4.5 Antigeeniylimäärä eli hook-efekti**

Immunokemiallisissa määrittelyissä on mahdollista, että näytteen korkeat analyttipitoisuudet kyllästävät molemmat menetelmässä käytettävät vasta-aineet. Tällöin vasta-aineiden ja antigeenien välille ei muodostu haluttuja vasta-aine-antigeeni-vasta-aine -komplekseja, vaan pelkästään vasta-aine-antigeeni -rakenteita. Kun sitoutuminen jää vajanaiseksi, jäävät mittaustulokset virheellisen alhaisiksi. Ilmiötä kutsutaan hook-efektiksi. (Kricka 2006, 230–232, 237.) Efektin esiintymistä on mahdollista tutkia menetelmäkoestuksen yhteydessä. Tutkimiseen käytettävän näytteen tulisi olla pitoisuudeltaan mahdollisimman korkea ja olla vähintään kymmenkertainen korkeimpaan vakionäytteeseen verrattuna. Näyte laimennetaan nollavakioon eli määritettävää analyttia sisältämättömään näytteeseen tai matalan tason laaduntarkkailunäytteeseen ja tutkitaan

kymmenellä laimennoksella. Kuvaajan numeeriselle alueelle osuneiden tulosten perusteella lasketaan alkuperäisen näytteen pitoisuus ja piirretään kuvaaja, josta voidaan tarkastella mahdollista antigeeniylimäärää. X-akselilla on määritettävän hormonin pitoisuus ja y-akselilla mittausvaste. (Elo & Mörsky 1990, 173.)

#### **4.6 Vertailu tunnettuun aikaisempaan menetelmään**

Koestuksessa vertaillaan myös potilasnäytteiden tuloksia tunnettuun aikaisempaan menetelmään. Tuloksien välistä vastaavuutta arvioidaan korrelaatiokuvaajan avulla sekä tutkimalla kahden menetelmän tulosten välistä erotusta (Kaihola ym. 1990, 180.) Kahden eri menetelmän vertailulla voidaan arvioida myös niiden välistä uusittavuutta. Uusittavuus on termi, joka määritellään analysointitulosten yhtäpitävyydeksi muuttuneissa olosuhteissa. Olosuhteiden muutoksena voidaan pitää tilannetta, jossa mittaukset uusitaan toisessa laboratoriossa tai eri menetelmällä. Sisäinen uusittavuus on yleisin tarkastelun kohde. Tällöin eri laboratorioissa tai eri menetelmillä tutkitaan samaa näytettä. (Jaarinen & Niiranen 2005, 12.)

## **5 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TEHTÄVÄ**

Tutkimuksen ensisijaisena tehtävänä oli tutkia parathormonimäärityksen osalta Roche Cobas-6000 -analysaattorin ominaisuuksia ja arvioida mitattujen analyysitulosten avulla laitteiston kykyä antaa täsmäviä, toistettavia ja luotettavia tuloksia. Tarkoituksena oli myös verrata saatuja tuloksia aiemman palveluntarjoajan (Medix laboratorio) tulotasoon. Laitekoestuksen perusteella oli tarkoitus arvioida, voidaanko parathormonitutkimus ottaa osaksi laboratorion tutkimusvalikoimaa.



Tutkimusongelmat:

1. Tuottaako Cobas-6000- analysaattori toistettavia ja täsmäviä tuloksia immuno-kemiallisella parathormonin määritysmenetelmällä?
2. Ovatko Cobas-6000- analysaattorilla saadut tulokset yhteneväisiä Medixlabora-torion tulostason kanssa?

## 6 KOESTUKSEN TOTEUTUS

Opinnäytetyössä oli tarkoituksena testata kemian analysaattoria parathormoni - määri-tyksen osalta. Määritettävä menetelmä valikoitui sairaalalaboratorion tarpeiden mukaan. Koestus suoritettiin uudelle kemian analysaattorille, Roche Cobas 6000:lle, Kymenlaak-son keskussairaalan klinisen kemian laboratoriossa. Näytemateriaali ja muu välineistö, kuten reagenssit, tulivat laboratoriolta. Opinnäytetyön suorittajan tehtävänä oli analy-soida näytemateriaali uudella laitteella menetelmäohjeen mukaisesti (fP-PTH), kirjata tulokset ja suorittaa tulosten arviointi.

Immunokemiallisista analyysimenetelmistä vastaava kemisti sekä analysaattorin vas-tuuhoidaja olivat mukana PTH-määrittelyn koestuksessa. Koska kyseessä oli laitekoes-tus vain yhden menetelmän osalta, toiminta oli hieman suppeampaa. Koestuksessa tar-kasteltiin toimeksiantajan pyynnöstä vain muutamaa Suomalaisen koestusmallin osa-aluetta, kuten sarjan sisäistä ja sarjojen välistä toistuvuutta. Lisäksi saatuja tuloksia ver-rattiin aiemman palveluntarjoajan tulostasoon. Pois koestuksesta jäivät mittausepävar-muuden, päivänäkaisen liukuman, antigeeniylimäärän ja siirtymävirheen arviointi. Myös näytemäärässä poikettiin Suomalaisesta koestusmallista (näytemäärä 68 ei 100).

### 6.1 Parathormonimäärittelyn vakiointi

Parathormoni-määrittelyn ohjelmointi analysaattorille ja menetelmän vakiointi suoritet-tiin 21.3.2011 valmistajan (Cobas) omalla vakiohiuoksella. Käytetty vakionäyte oli hu-maaniperäinen (human serum), ja siihen oli lisätty synteettistä parathormonia. Vakioita

käytettiin kahdelta eri pitoisuustasolta, matalalta (0,005 pmol/l) ja korkealta (477 pmol/l). Vakionäytteiden jäljitettävyyks oli valmistajan ohjeessa mainittu ilmoittamalla menetelmän olevan standardisoitu (vakioitu) vasten toista kaupallista parathormonimääritystä (RIA-menetelmä) ja että jokaista reagenssierää koskevat vakiointitiedot löytyvät pakkauksen viivakoodista. (Roche Cobas menetelmäohje 2010.)

## 6.2 Tutustumisjakso

Tutkimuksen alkaessa Cobas- 6000 -analysaattorilla oli jo suoritettu rutiinianalytiikkaa, eli laboratorion henkilökunta oli jo perehdytetty laitteen käyttöön. Tällöin koestuksen suorittajan perehdyttäminen analysaattorin toimintaan tapahtui laitevalmistajan edustajan sijaan kliinisellä harjoittelujaksolla analysaattorin vastuuhenkilön sekä laboratorion vastaavan kemistin toimesta. Käytössä olivat myös koko koestuksen ajan oleelliset käyttö- sekä huolto-ohjeet ja muu laitedokumentaatio, aivan kuten Kaihola ym. (1990, 176) suosittelevat analysaattorin koestusta koskevassa artikkelissaan.

Kaiholan suosittelemaa pilottitutkimusta ei suoritettu, koska analysaattori oli jo käytössä ja sen hyödyntämät mittausmenetelmät sekä -periaatteet testattu käytännössä ja todettu luotettaviksi. Analysaattori oli myös koko koestuksen ajan rutiinikäytössä.

## 6.3 PTH-koestus

PTH-koestus suoritettiin viikon 13 aikana, 4.4.–6.4. Päivittäin analysoitiin noin 20 näytettä sekä laaduntarkkailunäytteet. Joka päivä työskentelyä arvioitiin sekä saatujen tulosten että työskentelyn sujuvuuden ja toimivuuden kannalta. Kaikki huoltotoimet ja normaalit analysaattorin käyttöön liittyvät asiat huomioitiin. Mittausten laatua arvioitiin laaduntarkkailunäytteitä analysoimalla. Työskentelyn dokumentointi toteutui täyttämällä koestuskarttaa ja laboratoripäiväkirjaa, jotka on esitetty liitteissä 1 ja 2. Myös näytteiden analysoinnissa huomioitiin tarkka dokumentointi aina tulosten ylöskirjaamisesta työskentelyn eri vaiheisiin. Erityisen tärkeää oli, että mikäli analysoinnin aikana olisi esiintynyt laitteen virheilmoituksia tai näytteestä saatuun tulokseen olisi liittynyt epäily

näytteen laadusta tai inhimillisestä virheestä, määrittäminen olisi uusittu (Elo & Mörsky 1990, 171).

PTH- koestusta varten oli kerätty valmiiksi 68 kappaletta näytteitä. Näytteet oli eroteltu ja pakastettu. Näytteiden säilytyksessä tulee huomioida määrittettävän analyysin säilyvyys (Elo & Mörsky 1990, 171). Parathormoninäytteet oli menetelmäohjeessa ohjeistettu säilytettäväksi pidempiaikaisesti pakastettuna. Erotellun plasmanäytteen säilyvyydeksi oli määritetty 6 kuukautta -20 °C:ssa. (Roche Cobas menetelmäohje 2010.) Koestuksen edetessä näytteitä sulatettiin sitä mukaan kuin niitä sarjoissa analysoitiin. Tärkeää onkin jakaa näytteet niin, ettei jouduta toistuviin sulatuksiin ja pakastuksiin. (Elo & Mörsky 1990, 171).

Koestusta varten kerätyt näytteet edustivat eri pitoisuustasoja niin, että määrittämisessä tuli analysoiduiksi sekä matalan, keski- että korkean pitoisuustason näytteitä. Näytteiden osalta oli arvioitava täyttivätkö ne laadukkaalle näytteelle asetut vaatimukset, vai olivatko ne ikteerisiä, lipeemisiä tai hemolysoituneita. Menetelmäohjeen (Roche Cobas) mukaan ikteerisyys ei vaikuta PTH-arvoihin, mikäli kellertävyyden aiheuttamaa bilirubiinia esiintyy plasmassa alle 1112 µmol/l verran. Myöskään lipeemisyys ei vaikuta analyysituloksiin, jos sitä esiintyy näytteessä alle 1500 mg/dl. Sen sijaan hemolyysi ja potilaalle annettu biotiini vaikuttavat saatuihin PTH-arvoihin. Hemolysoituneita näytteitä ei tulisi analysoida. Mikäli potilas on saanut hoidon yhteydessä runsaita biotiiniansia (yli 5 mg/päivä), näytettä ei voida ottaa kuin vasta kahdeksan tunnin päästä viimeisestä lääkannoksesta. (Roche Cobas menetelmäohje 2010.)

### **6.3.1 Tutkimatta jäävät koestuksen osa-alueet**

Vastaavan kemistin päätöksestä mittausepävarmuutta ei ollut syytä laskea. Analysointin sekä valmistajan takaamaan menetelmän toimivuuteen päätettiin luottaa, eikä mittausolosuhteissakaan esiintynyt epävarmuutta aiheuttavia tekijöitä, jotka olisi pitänyt ottaa huomioon varsinaisia tuloksia sekä niiden luotettavuutta tarkasteltaessa.

Vastaavan kemistin päätöksestä myöskään päivänaikeista liukumaa ja antigeeniylimäärää eli hook-efektiä ei huomioitu PTH-menetelmäkoestuksessa. Hook-efektiä ei tutkittu,

koska kerättyinä ei ollut näytteitä, jotka olisivat olleet riittävän korkeita antigeeniylimäärän tutkimiseksi. Lisäksi päätettiin luottaa valmistajan eli Rochen ilmoittamaan tietoon siitä, ettei hook-efektiä pitäisi esiintyä PTH-arvojen ollessa alle 1802 pmol/l eli 17000 pg/ml (Roche Cobas menetelmäohje 2010).

Siirtymävirhettä tulisi koestuksessa arvioida, mikäli näytekontaminaatiota on syytä epäillä analysaattorin näytepipeteistä, letkujen nestevirtauksesta tai mittaus tapahtumasta johtuen (Elo & Mörsky 1990, 172). Vastaavan kemistin mukaan siirtymävirhettä ei pitäisi Cobaksella esiintyä pipeteistä johtuen, koska analysaattori pipetoi jokaisen tutkitavan näytteen kertakäyttöisillä pipetinkärjillä ja näin ollen vaihtaa kärjen näytteen vaihtuessa. Toisaalta siirtymävirhettä voisi mahdollisesti esiintyä näytekammioista ja sekoittajista johtuen. Kammiot pestään näytteiden vaihtuessa, mutta silti edellisen näytteen vaikutusta seuraavasta saatavaan tulokseen ei voida täysin sulkea pois. Analysaattorissa on myös yksi sekoittaja, jonka mukana voisi tapahtua reagenssien välistä siirtymistä. Mahdollisten virhelähteiden esiintymisestä huolimatta siirtymävirhe jäi arvioimatta.

### 6.3.2 Tutkittavat koestuksen osa-alueet

Toistettavuutta tarkasteltiin koestuksessa sekä sarjojen sisäisenä että sarjojen välisenä. Sarjojen sisäistä toistettavuutta arvioitiin potilasnäytemäärityksin. Näytteet analysoitiin rinnakkaismääritysten sijaan toistomäärityksinä, eli jokainen näyte analysoitiin ensin kerran ja kontrollinäytteiden jälkeen vielä toiseen kertaan. Ratkaisuun päädyttiin analysaattorista johtuvista syistä sekä työskentelyn sujuvuuden takaamiseksi. Toistomäärityksin saaduista analyysituloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin. Lisäksi saatuja PTH-arvoja tutkittiin graafisesti.

Sarjojen välistä eli päivästä toiseen toistettavuutta tutkittiin analysoimalla kolmen eri pitoisuustason kontrollinäytteet, jotka liuotettiin ensimmäisenä päivänä ja säilytettiin sen jälkeen kylmässä (liite 2). Jokaisena koestuspäivänä analysoitiin kontrollinäytteet sarjan alussa, keskivaiheessa ja lopussa. Täten laaduntarkkailunäytteitä analysoitiin yhdessä sarjassa 9 kappaletta ja kaikkina kolmena koestuspäivänä 27 kappaletta. Mittauksen jälkeen tuloksista laskettiin jokaisella pitoisuustasolla keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin. Lisäksi saadut arvot siirrettiin kontrollikarttaan. Näin saatiin selville testattavan menetelmän alttius tulostasosiirtymiin (Elo ym. 1990, 172).

## 6.4 Vertailu aiempaan menetelmään

Roche Cobas- 6000 -analysaattorilla saatuja tuloksia vertailtiin aikaisempaan menetelmään eli tässä tapauksessa aiemman palveluntarjoajan, Medixlaboratorion, tulostasoon. Tällä niin sanotulla vertailumittauksella voitiin arvioida käytetyn menetelmän toistuvuutta ja systemaattisen virheen esiintymistä. Vertailuarvoilla pyrittiin selvittämään mittauksen oikeellisuus, joka yleensä ilmaistaan poikkeamana. Poikkeama eli systemaattinen virhe (bias) on oletetun ja todellisen arvon välinen erotus. Tuloserot voivat johtua muun muassa tuloksien väärinlukemisesta tai käytettävän analysaattorin viasta. (Ehder 2005, 30–31, 35, 45.)

Koestuksessa ei vertailtu Cobaksen ja Medixin välistä uusittavuutta (alaluku 4.6), koska sen arviointiin olisi tarvittu toistomittausten tulosten keskihajonta myös vertailtavalta menetelmältä. Medix laboratoriossa samat potilasnäytteet oli kuitenkin analysoitu vain yhden kerran.

## 7 TILASTOLLISET MENETELMÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena oli testata parathormonimääritys kemian analysaattorilla. Kyseessä oli laitekoestus ja pyrkimyksenä oli arvioida analysaattorilla saatuja numeerisia tuloksia sekä vertailla niitä aikaisemmin käytössä olleen menetelmän tulostasoon. Kyseessä on kvantitatiivinen tutkimus, joten sitä ohjaavat sellaiset määrälliselle tutkimukselle tyypilliset piirteet kuin aiemmat teorialat, hypoteesit ja niiden esittäminen sekä havaintoaineiston soveltuvuus numeeriseen mittaamiseen. Kvantitatiivisen arvioinnin toteutumiseksi kerätty aineisto on taulukoitava, niistä on muodostettava tutkimuspäätelmät ja arvioitava hypoteesien toteutuminen tilastolliseen analyysiin tukeutuen (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 140).

## 7.1 Toistettavuus ja vertailu aiempaan menetelmään

Sarjan sisäistä toistuvuutta kuvaavat sijainti- ja hajontaluvut laskettiin rinnakkaisnäytteistä saatujen tulosten perusteella. Plasmanäytteet jaoteltiin antamansa tulostason perusteella ryhmiin matala, keskitaso ja korkea. Jokaisen ryhmän tuloksista ilmoitettiin erikseen keskiarvo, keskihajonta (SD) ja variaatiokerroin (CV %). (Kaihola ym., 1990 178). Keskiarvon tehtävä sijaintilukuna on kuvata sitä, mille tasolle suurin osa mitatuista tuloksista asettuu. Se kertoo siis havaintoarvojen keskimääräisen suuruuden. Keskiarvo ei ole aina tarkoin mahdollinen tulosjakauman kuvaaja sen ollessa herkkä poikkeaville havainnoille. Siksi tulkinta-apuna tulee myös käyttää sellaisia hajontalukuja kuin keskihajonta ja variaatiokerroin. Niiden tehtävänä on kuvata muuttujan arvon vaihtelua eli muun muassa sitä, miten saadut arvot jakautuvat keskiarvon ympärille. Keskihajonta kuvaa, kuinka kaukana yksittäisen muuttujan arvot ovat keskiarvosta. Pieni keskihajonta kertoo muuttujan arvojen olevan lähellä keskiarvoa, kun taas suurempi arvo kuvaa tulosten hajaantumista viitevälille. (Nummenmaan 2006, Mattilan 2006 ja Heikkilän 2004, Vilkkä 2007, 123–125 mukaan.) Variaatiokerroin puolestaan on keskihajonnan ja keskiarvon välinen suhde, joka kuvaa muuttujien prosentuaalista vaihtelua keskiarvon ympärillä (Heikkilä 2004, 87–88; Tilastokeskus 2006). Molempien hajontalukujen sekä keskiarvon laskukaavat löytyvät liitteestä 3.

Numeerisen arvioinnin lisäksi rinnakkaisnäytteitä arvioitiin graafisesti. Kuvaajassa y-akselille asetetaan rinnakkaisten näytteiden erotukset ja x-akselille niiden keskiarvot. Kuvaajan tarkoituksena on selvittää sarjan sisäisen hajonnan riippuvuutta tulostasosta. (Elo ym. 1989, 98.)

Sarjojen välistä toistuvuutta tarkasteltiin laaduntarkkailunäytteistä saatujen tulosten perusteella. Myös niille laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin sekä piirrettiin graafiset kuvaajat. (Kaihola ym. 1990, 178.)

Vertailu aikaisempaan tunnettuun menetelmään tapahtui vertaamalla potilasnäytteiden rinnakkaistuloksien keskiarvoa Medixlaboratorion tulostasoon. Vertailu tapahtui esittämällä saadut tulokset koordinaatistossa. X-akselille asettuvat tunnetun vertailumenetelmän ja y-akselille testattavan menetelmän tulokset. Aineistolle laskettiin myös regressioran yhtälö ja korrelaatiokerroin. Lisäksi graafisesti arvioitiin kahden eri menetelmän tulostasossa mahdollisesti ilmeneviä eroja. X-akselilla esitetään vertailumenetel-

män ja testattavan menetelmän erotus ja y-akselilla vertailumenetelmällä saadut tulokset. (Kaiholan ym. 1990, 180.)

## 7.2 Korrelaatio

Sekä toistettavuuksia että menetelmien vertailua kuvataan korrelaation sekä korrelaatiokuvaajan avulla. Tavallisimman käytettävän kertoimen eli Pearsonin korrelaatiokertoimen avulla voidaan arvioida kahden muuttujan välistä riippuvuutta ja sen voimakkuutta. Kerroin vaihtelee  $-1$ :n ja  $1$ :n välillä. Riippuen siitä asettuuko kerroin lähelle arvoa  $+1$  tai  $-1$ , muuttujien välillä vallitsee joko voimakas positiivinen tai negatiivinen korrelaatio. Jos kerroin lähenee arvoa  $0$ , ei voida puhua muuttujien välillä olevan lineaarista riippuvuutta. (Heikkilä 2004, 90–92.)

Korrelaatiokertoimen kertoo siis esiintyykö muuttujien välillä lineaarisuutta, eli pieneneekö vai suureneeko toisen muuttujan arvo toisen kasvaessa (Heikkilä 2004, 204). Se kuvaa myös sitä kasvavatko muuttujien arvot samansuuntaisesti (Mattilan 2006 ja Alkulan ym. 1995, Vilka 2007, 130 mukaan). Jos muuttujien välillä havaitaan lineaarisuutta tai säännönmukaisuutta voidaan tulosten välistä riippuvuutta kuvata regressiosuoran avulla (Holopainen & Pulkkinen 2002, 198; Heikkilä 2004, 92).

Regressiosuora esitetään kuviossa, johon muuttujat on sijoitettu x- ja y-akseleille. Suora piirretään havaintoparien muodostamaan pistejoukkoon. (Heikkilä 2004, 92.) Regressiosuora kuvaa muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Suorasta voidaan nähdä, kuinka hyvin muuttujien tulokset asettuvat lineaariselle suoralle. Mitä lähempänä piirrettyä suoraa pisteet sijaitsevat, sitä lineaarisemmin muuttujat kasvavat suhteessa toisiinsa. (KvantiMOTV 2008.) Regressiosuorasta saadaan laskettua myös suoran yhtälö  $y = a + bx$ . Kaavassa kerroin  $b$  ilmoittaa, kuinka paljon y:n arvo muuttuu x:n muuttuessa yhden yksikön verran. (Heikkilä 2004, 92, 93.)

### 7.3 Tutkimushypoteesit

Hypoteesit ovat asetettuihin tutkimusongelmiin esitettyjä ennakoivia selityksiä ja ne ilmoitetaan usein väittämien muodossa (Hirsjärvi ym. 2009, 158 ). Hypoteesit ovat täten perusteltuja olettamuksia, joiden paikkansa pitävyyden testaamisen avulla pyritään selvittämään joidenkin asioiden välillä vallitsevaa suhdetta tai syysuhteita. Asetettujen olettamuksien avulla yritetään saada vastaus tutkimuksessa asetetuille tutkimusongelmille. (Heikkilä 2004 189,190.)

Hypoteesit asetetaan tutkittavien asioiden vuorovaikutussuhteiden selvittämiseksi. Tilastollisessa testauksessa on tapana asettaa kaksi hypoteesia, sekä nollahypoteesi ( $H_0$ ) että sille vaihtoehtoinen hypoteesi ( $H_1$ ).  $H_0$  – hypoteesi väittää, ettei muuttujien välillä ole riippuvuutta tai että keskiarvot eivät eroa toisistaan.  $H_1$  – hypoteesi päinvastaisesti väittää riippuvuutta tai eroja esiintyvän. (Heikkilä 2004, 191.)

Hypoteesien hyväksymiseksi tai hylkäämiseksi valitaan tilastollinen testi. Keskeistä on päättää, valitaanko parametrinen vai ei-parametrinen testi. (Heikkilä 2004, 193). Parametristen testien valintaan ohjaavat muuttujien mitta-asteikko (välimatka- tai suhdeasteikko) sekä pyrkimys tutkia hypoteeseja, jotka liittyvät perusjoukon tunnuslukuihin, kuten keskiarvoon. Ei- parametrisia testejä käytetään, kun tutkitaan luokittelu- ja jätysasteikon muuttujia. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 158, 175; Heikkilä 2004, 193.)

Hypoteesien testaus päättyy johtopäätösten tekoon, jossa nollahypoteesi joko hyväksytään tai hylätään. Hylkäämisen jälkeen vaihtoehtoinen hypoteesi astuu voimaan. Tilasto-ohjelmalla voidaan laskea testaamiseen liittyvät laskutoimitukset, mutta se ei kuitenkaan kerro varsinaisesti, kumpi hypoteeseista hyväksytään. Valinta jää tulkitsijalle, joka vertaa saatuja tuloksia ennalta valittuun merkitsevyystasoon. (Heikkilä 2004, 199.) Valinnassa voidaan tehdä kahdenlaisia virheitä: nollahypoteesi voidaan hylätä, vaikka se on tosi (hylkäämisvirhe) tai vaihtoehtoinen hypoteesi voidaan hyväksyä, vaikka se ei ole tosi (hyväksymisvirhe). (Heikkilä 2004, 194; Holopainen & Pulkkinen 2002, 157.) Merkitsevyystason valinta auttaa virheelliseen johtopäätökseen päättymisen arviointia (Heikkilä 2004, 199). Merkitsevyystasoa kuvaava p tarkoittaa p-arvoa, joka on tilasto-ohjelman laskema hylkäämisvirheen todennäköisyys. Mikäli nollahypoteesi hylätään, ilmoittaa p-arvo väärän johtopäätöksen tekemisen todennäköisyyden. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 157.) Yleisimmät merkitsevyystasot ovat:



$p \leq 0,001$	Tulos tai sen ero tilastollisesti erittäin merkitsevä
$0,001 < p \leq 0,01$	Tulos tai sen ero tilastollisesti merkitsevä
$0,01 < p \leq 0,05$	Tulos tai sen ero tilastollisesti melkein merkitsevä. (Heikkilä 2004, 195; Holopainen & Pulkkinen 2002, 157.)

Yleensä raja  $\leq 0,05$  riittää opinnäytetöissä merkitsevyyden arviointiin ja oikean hypoteesin valintaan. Sääntönä hypoteesin valinnassa on, että mikäli valitun tilastollisen testin tulos on alle valitun merkitsevyysrajan, nollahypoteesi ( $H_0$ ) hylätään ja vaihtoehtoinen hypoteesi astuu voimaan. Muissa tapauksissa  $H_0$  –hypoteesi hyväksytään. (Heikkilä 2004, 195, 199.)

Parathormonikoestuksessa arvioitiin keskiarvojen suhdetta sekä Medix laboratorion ja Cobas-6000 -analysaattorin välisten tulosten että Cobaksen kahden eri mittauskerran välisten tulosten osalta. Hypoteesit asetettiin seuraavalla tavalla:

$H_0$  = Parathormoni-tulokset ovat toistettavia ja täsmäviä

$H_1$  = Parathormoni-tulokset eivät ole toistettavia ja täsmäviä

Hypoteesien paikkansapitävyys selvitettiin käyttämällä parametrista tilastollista testimenetelmää. Tähän päädyttiin, koska tarkoituksena oli vertailla eri menetelmien keskiarvoja toisiinsa (keskiarvotesti). Keskiarvotesteistä päädyttiin t-testiin, joka sopii kahden ryhmän välisten keskiarvojen vertailuun. (Heikkilä 2004, 224). Lisäksi kyse on hypoteesien kaksisuuntaisesta testauksesta, koska kahden ryhmän välisten keskiarvojen oletetaan mahdollisesti eroavan toisistaan (KvantiMOTV 2003). Tällöin toisen ryhmän keskiarvo voi olla korkeampi tai matalampi kuin toisen (Heikkilä 2004, 192). Merkitsevyystasoksi koestuksessa valittiin  $p \leq 0,05$ , jolloin t-testin avulla saadun tuloksen ollessa suurempi kuin 0,05, jää nollahypoteesi ( $H_0$ ) voimaan.

## 8 TULOKSET

Mitatut analyysitulokset, 68 kappaletta, jaettiin kolmeen ryhmään parathormonipitoisuuden mukaan. Ryhmät muodostuivat erikokoisiksi johtuen pitoisuuksien epätasaisesta jakautumisesta. Kolmesta ryhmästä jokainen edustaa omaa pitoisuustasoaan. Ensimmäiseen ryhmään valittiin näytteet, jotka ovat pitoisuudeltaan alle 10 pmol/l, toiseen ryhmään tulokset väliltä 10–30 pmol/l ja kolmanteen tulokset yli 30 pmol/l. Hyvin korkeita parathormonipitoisuuksia ei esiintynyt. Tulokset laskettiin käyttämällä Excel-tilukkolaskentaohjelmaa.

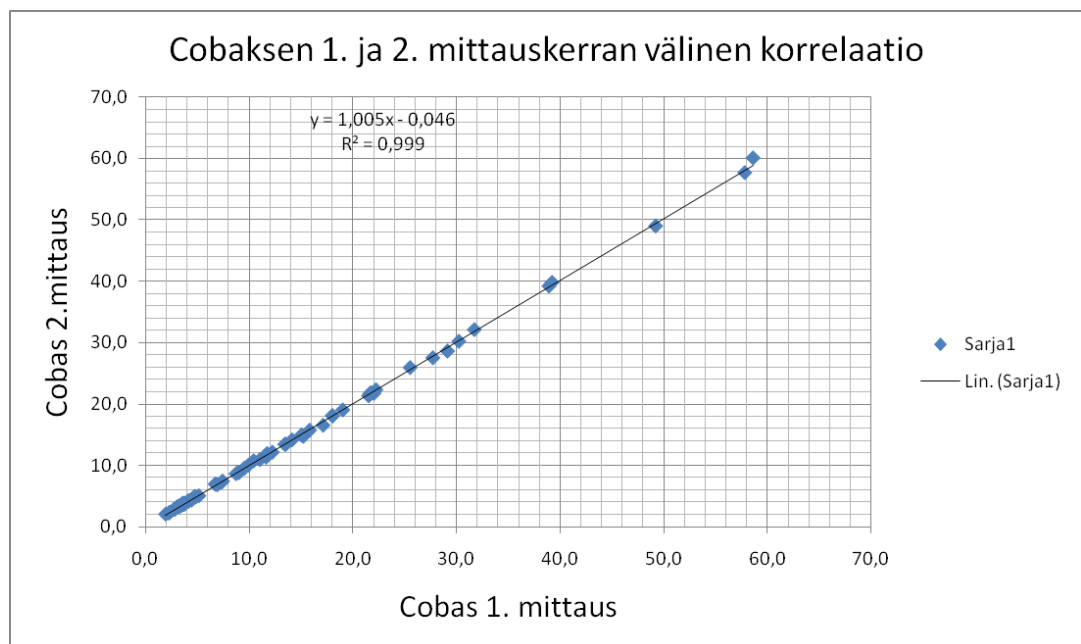
### 8.1. Sarjan sisäinen toistettavuus

Kaikille kolmelle tulosryhmälle laskettiin keskiarvo, keskihajonta, variaatioprosentti sekä korrelaatiokerroin (taulukko 2). Rinnakkaisnäytteiden sijaan vertailtiin toistomäärittäyksiin saatuja tuloksia. Ryhmän 1, tulokset alle 10 pmol/l, keskiarvo oli 4,8 ja keskihajonta pyöristettynä 2,2. Ryhmän 2, 10–30 pmol/l, keskiarvoksi saatiin 17,4 ja keskihajonnaksi 5,4. Ryhmän kolme, yli 30 pmol/l, keskiarvoksi saatiin 43,8 ja keskihajonnaksi 11,3. Kaikkien ryhmien osalta ensimmäisen ja toisen määrittäyksen tulokset olivat todella tasaisia. Samoista näytteistä saatujen kahden tuloksen poikkeamat olivat minimaalisia ja suurimmillaan toistomittauksen tulos erosi ensimmäisen mittauksen tuloksesta 1,5 pmol/l. Täten määrittäytulosten korrelaatiokertoimet olivat kaikilla kolmella ryhmällä noin 0,99. Toistomittauksen tulokset on esitetty taulukkomuodossa liitteessä 4 ja toistomittauksen tulosten välinen korrelaatiokuvaaja kuviossa 4.

Variaatioprosentit, CV %, laskettiin jokaiselle eri pitoisuustason ryhmälle erikseen. Ryhmien CV % olivat parathormoni-koestuksessa melko korkeita. Matalalla pitoisuustasolla 46 %, keskitasolla 31 % ja korkealla 26 % (taulukko 2).

Taulukko 2. PTH-tuloksista lasketut keskiarvot, keskihajonnat, variaatioprosentit ja korrelaatiot sekä vaihteluväli.

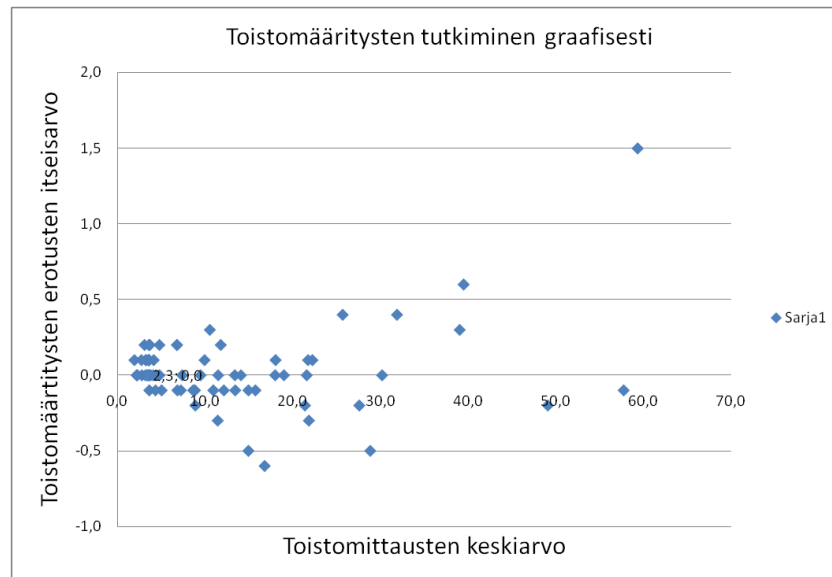
	1. alle 10 pmol/l	2. 10–30 pmol/l	3. yli 30 pmol/l
ka.	4,8	17,4	43,8
SD	2,211986	5,374773	11,31939
r	0,998985	0,999026	0,998893
CV %	46 %	31 %	26 %
vaihteluväli	7,7	18,7	29,9



Kuvio 4. Ensimmäisen ja toisen mittauskerran välillä vallitseva korrelaatio.

## 8.2 Toistomääritysten tutkiminen graafisesti

Toistomäärityksistä saaduista tuloksista piirrettiin graafinen kuvaaja, josta nähdään sarjan sisäisen hajonnan riippuvuus tulostasosta. Kuviossa 5, y-akselilla on esitetty toistomääritysten tulosten erotus ja x-akselilla toistomäärityksin saatujen kahden tuloksen keskiarvo.



Kuvio 5. Toistomäärittäyksistä saatujen tulosten hajonnan riippuvuus tulostasosta.

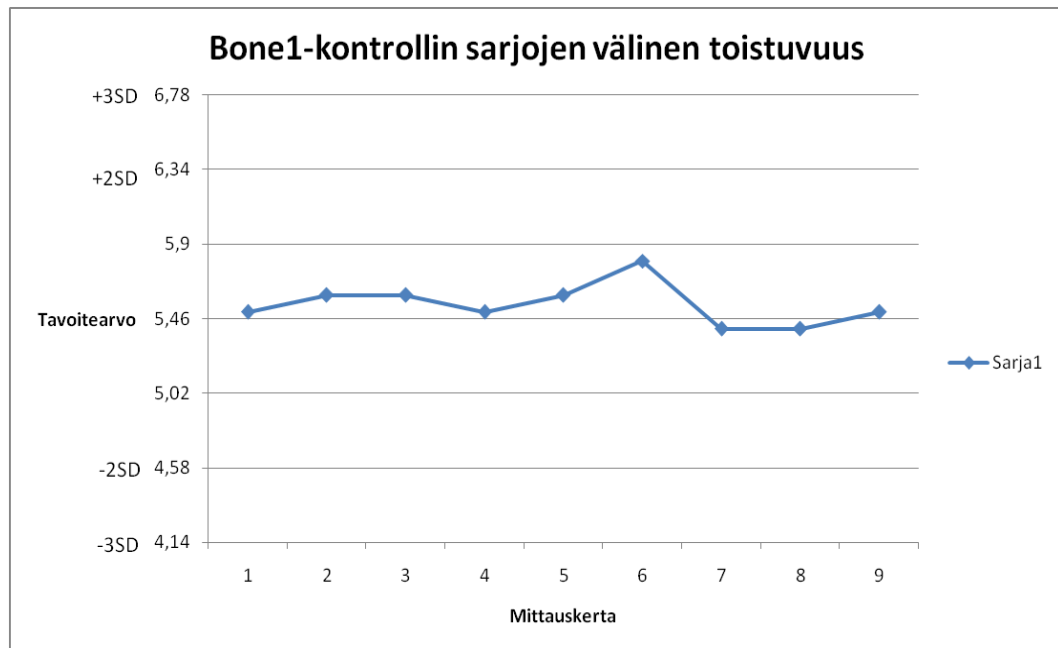
### 8.3 Sarjojen välinen toistettavuus

Sarjojen välistä toistuvuutta arvioitiin tutkimalla analysoituja kontrollinäytetuloksia sekä numeerisesti että graafisesti. Jokaiselle pitoisuustasoltaan erilaiselle laaduntarkkailunäytteelle laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja variaatioprosentti. Mittaustulokset on esitetty liitteessä 6, ja lasketut tilastoarvot on esitetty taulukossa 3.

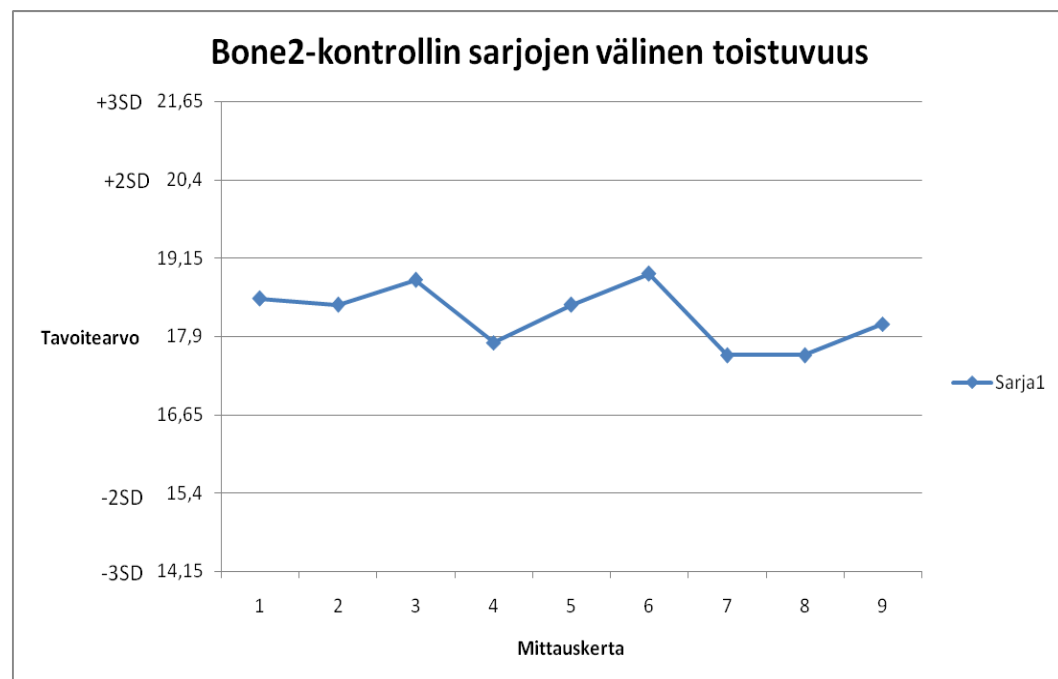
Taulukko 3. Kontrollinäytteiden tuloksista lasketut tilastoarvot.

	<b>Bone1</b>	<b>Bone2</b>	<b>Bone3</b>
<b>keskiarvo</b>	<b>5,5444</b>	<b>18,233</b>	<b>78,322</b>
<b>SD</b>	<b>0,12</b>	<b>0,49</b>	<b>1,76</b>
<b>CV %</b>	<b>2,1 %</b>	<b>2,8 %</b>	<b>2,3 %</b>

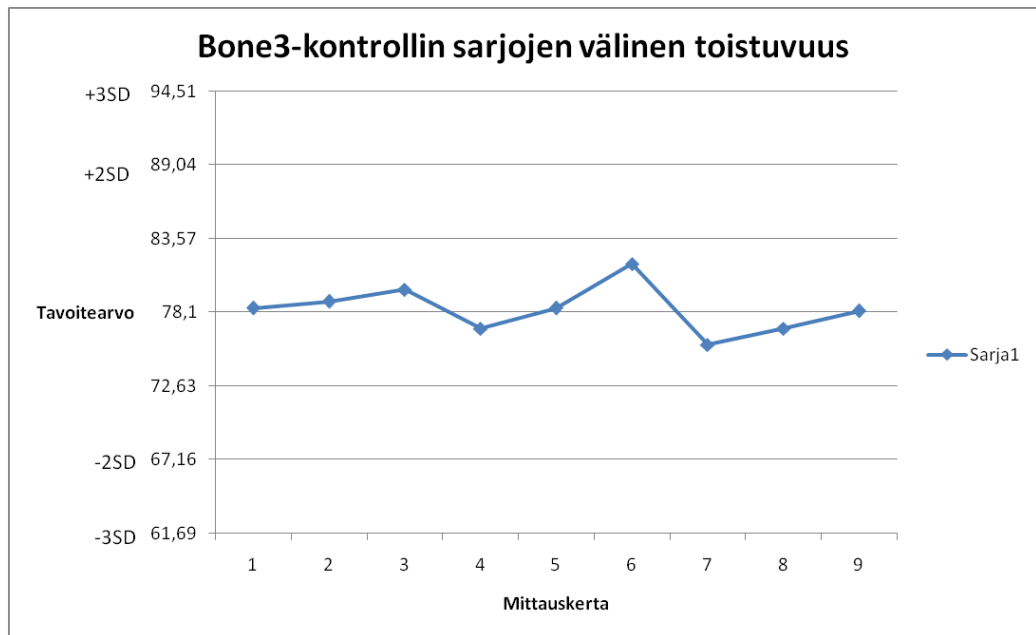
Sarjojen välistä toistettavuutta arvioitiin graafisesti sijoittamalla saadut tulokset kaavioon, johon on merkattu kontrollinäytteen tavoitearvo ja  $\pm 2SD$  ja  $\pm 3SD$  rajat. Rajat on määritetty kontrollinäytteiden valmistajan ilmoittaman kontrollille asetetun tavoitearvon ja 1SD-arvon perusteella (kuviot 9, 10 ja 11).



Kuvio 6. Matalan pitoisuustason laaduntarkkailunäytteen tulosten vaihtelu eri mittauskerroilla.



Kuvio 7. Keskipitoisuustason laaduntarkkailunäytteen tulosten vaihtelu eri mittauskerroilla.



Kuvio 8. Korkean pitoisuustason laaduntarkkailunäytteen tulosten vaihtelu eri mittauskerroilla

## 8.4 Menetelmien vertailu

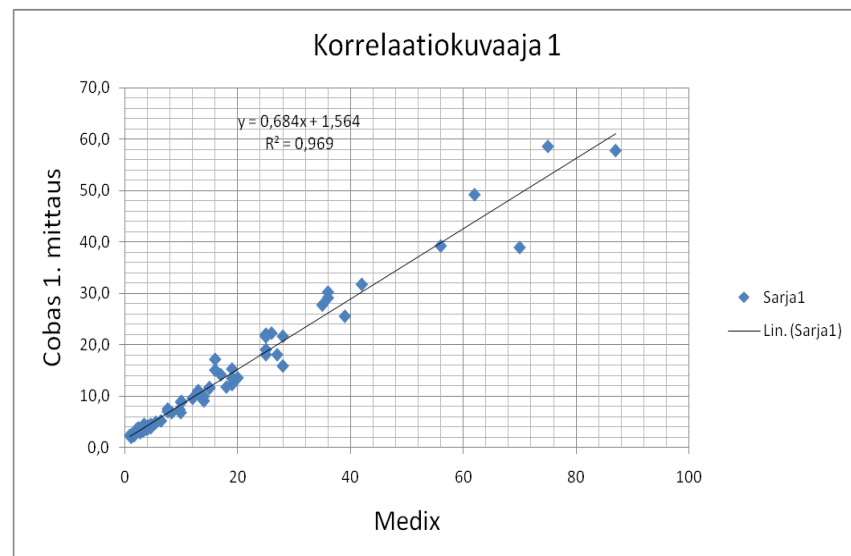
Cobas 6000 -analysaattorilla saatuja parathormoni-tuloksia vertailtiin aiemman palveluntarjoajan, Medixlaboratorion, saamiin tuloksiin. Tuloksia on arvioitu vertailemalla 1. ja 2. mittauskerran yksittäistuloksia aiemmalla menetelmällä saatuihin tuloksiin. Tuloksista laskettiin saatujen analyysitulosten erotukset sekä verrattiin tulosten välistä korrelaatiota sekä lukuarvoina, että graafisesti kuvaajalla. Graafisesti on vertailtu myös Cobaksen ja Medixin tulostasojä.

### 8.4.1 Analyysitulosten vertailu

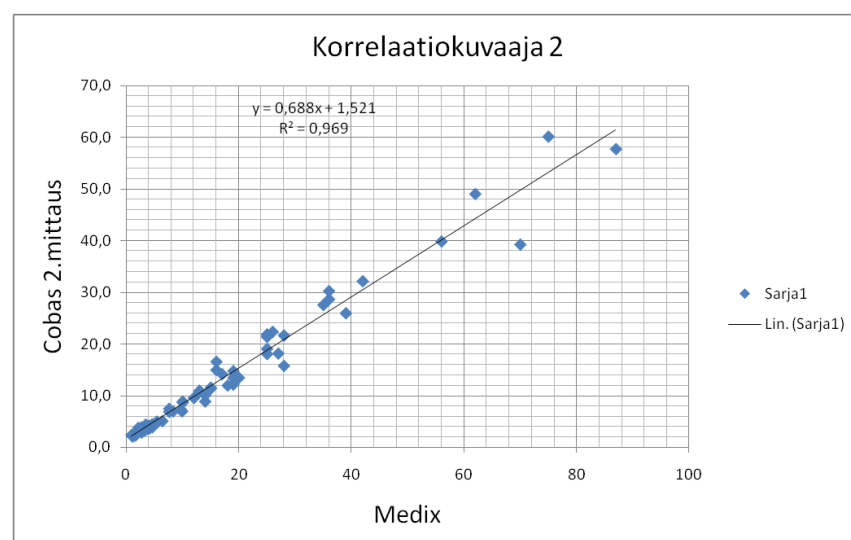
Medixin saamat tulokset samoista näytteistä ovat korkeampia kuin Cobas-6000 analysaattorilla saadut. Erot ovat havaittavissa etenkin korkeammalla tulostasolla. Matalammalla tulostasolla vertailutulosten erot ovat pienemmät. Liitteessä 5 on kuvattu taulukossa Cobaksella analysoitujen näytteiden toistomittausten keskiarvot ja Medix laboratorion ilmoittamat tulokset.

### 8.4.2 Tulosten graafinen vertailu

Cobaksella saatuja tuloksia vertailtiin Medixin tulostasoon graafisesti korrelaatiokuvaajan avulla. X-akselilla on esitetty Medix laboratorion tulos ja y-akselilla Cobaksen tulos. Cobaksen toistomäärityksistä ja Medixin tuloksista lasketut korrelaatiot saavat arvot 0,98 (1. mittaus) ja 0,98 (2.mittaus). Korrelaatiokuvaajat on esitetty kuvioin 9 ja 10.

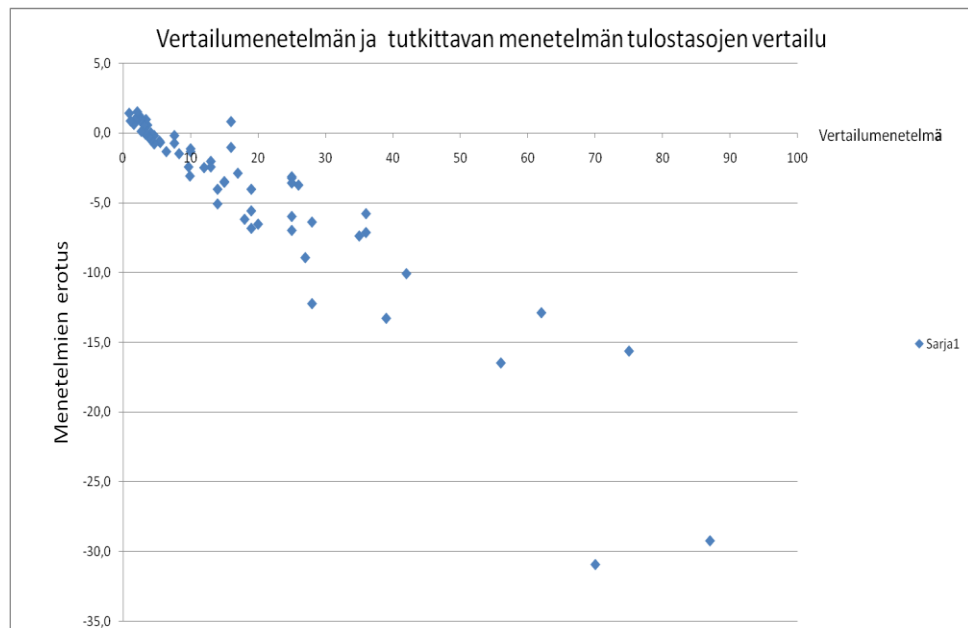


Kuvio 9. Cobaksen 1. mittauksen ja Medixin parathormoni-tulosten korrelaatiokuvaaja.



Kuvio 10. Cobaksen 2. mittauksen ja Medixin parathormoni-tulosten korrelaatiokuvaaja.

Cobaksella ja Medixlaboratoriossa saatujen tulosten tasoa vertailtiin myös graafisesti (kuvio 11). Kuviossa x-akselille on sijoitettu vertailumenetelmän eli Medixin tulokset ja y-akselille vertailtavien menetelmien erotukset. Erotus on laskettu Cobaksen toistomäärittysten keskiarvoa käyttämällä.



Kuvio 11. Medixin ja Cobaksen saamien parathormoni -tulosten arviointi tulostasojen erotuksen osalta.

## 8.5 Hypoteesien testaus

Luvussa 7 asetetut oletukset eli hypoteesit mittaustulosten toistettavuudelle ja täsmävyydelle testattiin Excel-taulukkolaskenta ohjelmalla. Tilastollisena testinä käytettiin keskiarvotestiksi määriteltyä t-testiä. Medixlaboratorioiden tulosten ja Cobas-analysaattorin toistomittausten keskiarvon väliseksi p-arvoksi saatiin 0,00000414503 ja Cobaksen toistomittausten väliseksi p-arvoksi 0,4173. T-testillä saadut tulokset on esitetty liitteessä 7.



## 9 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

Tässä luvussa esitellään PTH-menetelmäkoestukseen liittyvät johtopäätökset. Tuloksia tarkastelemalla pohditaan koestuksen suoritusta ja sen onnistumista. Lisäksi käsitellään opinnäytetyön luotettavuutta ja eettisyyttä.

### 9.1 Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset

PTH-menetelmäkoestuksen tarkoituksena oli selvittää, antaako Cobas-6000-analysaattori toistettavia ja vertailumenetelmän tulostasoon verrattavissa olevia parathormoni-tuloksia. Alaluvuissa esitellään analyysituloksista tehdyt johtopäätökset ja vastataan luvussa 5 esitettyihin tutkimusongelmiin.

#### 9.1.1 Sarjan sisäisen toistettavuuden arviointi

Sarjan sisäistä toistettavuutta tutkittiin analysoimalla näytteet kahdesti ja vertailemalla näitä toistomittauksin saatuja tuloksia toisiinsa. Liitteen 4 taulukkoa tarkastelemalla voidaan päätellä, että ensimmäisen ja toisen mittauskerran tulokset poikkeavat toisistaan vain vähän tai eivät ollenkaan, ja erot ovatkin väliltä 0-1,5 pmol/l. Cobas- kemian analysaattori antaa siis molemmilla mittauskerroilla samasta näytteestä samanlaisen tai lähes samanlaisen tuloksen.

Sarjan sisäistä toistuvuutta puoltaa myös kuvio 4, jossa on esitelty graafisesti kahden eri mittauskerran välinen korrelaatio. Korrelaatiokertoimeksi saatiin jokaiselle pitoisuustasolla arvo 0,99. Kun korrelaatiokerroin asettuu lähelle arvoa +1, voidaan todeta toistomääritysten välillä vallitsevan voimakkaan positiivisen korrelaation. Täten niiden välillä vallitsee voimakas riippuvuus, ja tulokset vastaavat hyvin toisiaan. Yksittäiset tulokset asettuvat täsmällisesti regressiosuoralle.

Tulosten erotusten sekä korrelaatiokertoimien arvioinnin lisäksi laskettiin jokaiselle ryhmälle keskiarvo, keskihajonta ja variaatioprosentti. Keskihajonta oli pienintä mata-

lan pitoisuustason näytteillä ja kasvoi mentäessä kohti korkeampia pitoisuuksia. Kuviosta 5 nähdään, miten toistomittausten tulokset ovat hajanaisempia korkeammalla pitoisuustasolla verrattuna matalaan.

Variaatioprosentit olivat melko korkeita jokaisella pitoisuusryhmällä (46 %, 31 % ja 26 %). Variaatioprosentti kertoo muuttujien prosentuaalisen etäisyyden keskiarvosta, mutta korkea prosenttiarvo kertonee tässä tapauksessa vain siitä, että ryhmien sisällä matalimman ja korkeimman arvon välinen ero oli iso. Tästä voidaankin todeta, että lasketut hajontaluvut (SD, CV %) eivät kuvaa kuin vain yksittäisten tulosten jakautumista pitoisuusryhmiensä sisällä. Potilasnäytteistä voidaan saada ennalta-arvaamattomia tuloksia (matalia tai korkeita), eikä eri näytteistä saatuja tuloksia voida näin verrata toisiinsa. Tulosten hajanaisuuden arviointi olisikin tarkoituksenmukaisempaa tilanteessa, jossa näytteiden pitoisuudet ovat tiedossa, ja analyysitulosten voidaan olettaa asettuvan tasaisemmin jonkin tavoitearvon ympärille. Tällainen toteutuu esimerkiksi analysoitaessa kontrollinäytteet (alaluku 9.1.2).

### 9.1.2 Sarjojen välisen toistettavuuden arviointi

Sarjojen välistä toistettavuutta tarkasteltiin kontrollinäytteiden avulla. Näytteet analysoitiin yksittäin mittaussarjan alussa, keskellä ja lopussa. Laaduntarkkailunäytteiden tuloksista lasketut keskiarvot, keskihajonnat ja variaatioprosentit on esitetty taulukossa 3. Eri pitoisuustasojen sisällä tulokset vaihtelevat vain vähän. Keskihajonnat jäävät kunkin ryhmän sisällä pieniksi ja variaatioprosentitkin välille 2.1–2.8 %. Yksittäinen kontrollitulos on siis hyvin lähellä tulosten keskiarvoa, jolloin kontrollimittausten voidaan todeta olevan hyvin toistettavia ja tasaisia analysointipäivästä toiseen.

Kontrollinäytteiden tulokset siirrettiin myös kontrollikarttaan, jossa niitä vertailtiin laaduntarkkailunäytteiden valmistajan ilmoittamiin tavoitearvoihin. Kontrollikartat on esitetty jokaiselle pitoisuustasolle erikseen kuvioissa 6, 7 ja 8. Jokainen kontrolli antoi Cobaksella analysoitaessa aivan tavoitearvon tuntumassa olevia tuloksia, eikä mikään tulos ylittänyt rajaa  $\pm 3$  SD. Ainoastaan 6. mittauspäivänä arvot kohosivat jokaisella pitoisuustasolla, johtuen mitä luultavimmin reagenssin vaihdosta uuteen. Nousu ei kuitenkaan ollut niin merkittävä, että sarjojen välinen toistettavuus olisi syytä kyseenalaistaa.

### 9.1.3 Vertailu Medix laboratorion tulostasoon

Vertailumenetelmänä PTH-menetelmäkoestuksessa toimivat Medixlaboratorion samoista näytteistä analysoimat tulokset. Liitteestä 5 selviää, miten Medixin ja Cobaksen tulostasot eroavat toisistaan huomattavasti. Eniten eroa on nähtävissä korkeamman pitoisuustason näytteiden välillä. Matalalla pitoisuustasolla tulokset ovat eroiltaan pienempiä. Kuvioista 9 ja 10 havaitaan kuitenkin, että tulokset kasvavat eroista huolimatta samassa suhteessa, eli korkeat tulokset ovat korkeita, samoin kuin matalat ovat matalia sekä Medixillä että Cobaksella. Vertailumenetelmän ja koestettavan menetelmän välinen korrelaatio saakin molemmilla mittauskerroilla arvon 0,98 ja asettuu lähelle arvoa +1, jolloin korrelaatio suora on yhtenevä ja voidaan päätellä tulosten välillä vallitsevan voimakkaan positiivisen korrelaation. Kuvioista 9 ja 10 havaitaan kuitenkin hajontaa esiintyvän korkealla pitoisuustasolla, jolloin yksittäisen tuloksen etäisyys regressiosuorasta kasvaa.

Vertailumenetelmän ja koestettavan menetelmän tulostasoja vertailtiin myön graafisesti kuvion 11 avulla. Siitä selviää, miten tulostasot eroavat toisistaan etenkin korkeammalla pitoisuustasolla, eli vertailtavien menetelmien tulosten välillä huomataan tasoero. Vastaavan kemistin arvion mukaan tämä saattaa johtua siitä, että Medixillä on mitä luultavimmin käytössä parathormonille herkempi määrittämenetelmä ja reagenssit, mikä aiheuttaa tulostasoihin näkyvän eron.

### 9.1.4 Hypoteesien testaus ja arviointi

Tutkimuksen tuloksille asetettiin tietyt olettamukset eli hypoteesit. Niitä testattiin parametrisella keskiarvotestillä (t-testi). Saatujen tuloksien perusteella hypoteeseista valikoitui jompikumpi kuvaamaan mittausaineistoa. Hypoteeseina esitettiin sekä Cobaksen rinnakkaismäärittäyksille että Cobaksen ja Medix laboratorion vertailutuloksille:

$H_0$  = Parathormoni-tulokset ovat toistettavia ja täsmäviä

$H_1$  = Parathormoni-tulokset eivät ole toistettavia ja täsmäviä.

Liitteessä 7 on esitetty t-testitaulukko, jossa on vertailtu Medixlaboratorion tuloksia Cobas-analysaattorilla saatuihin tuloksiin, sekä Cobaksen kahden eri mittauskerran tuloksia toisiinsa. Tutkimuksessa asetettu merkitsevyystaso oli 0,05 eli jos tilastollisen

testin tulos on  $< 0,05$ , keskiarvojen ero on tilastollisesti merkitsevä tai vastaavasti jos p-arvo on  $> 0,05$ , ei ero keskiarvojen välillä ole merkitsevää. Cobaksen ja Medixlaboratorioiden t-testi-tulokseksi eli p-arvoksi saatiin 0,00000414503. Se on pienempi kuin merkitsevyystasoksi valittu 0,05, joten eri laitteiden tulokset eivät ole tilastollisesti samansuuruiset, jolloin nollahypoteesi hylätään ja vaihtoehtoinen hypoteesi astuu voimaan. Tällöin voidaan todeta, ettei Medixlaboratorioiden ja Cobas-analysaattorin tulokset ole keskenään samansuuruisia, eli toistettavia ja täsmäviä.

Cobas-analysaattorilla saatujen kahden eri mittauskerran välisen t-testin p-arvoksi saatiin 0,4173, joka on merkitsevyystasoa 0,05 suurempi. Tällöin tulosten keskiarvojen välillä ei ole merkitsevää eroa, ja ne ovat tilastollisesti samansuuruisia, jolloin nollahypoteesi jää toistomittausten osalta voimaan. Cobas-analysaattorin toistomääritysten tulokset ovat keskenään toistettavia ja täsmäviä.

### 9.1.5 Tulosten yhteenveto

Numeerisen ja graafisen arvionnin perusteella voidaan tiivistetysti todeta Cobas analyysaattorin antavan toistettavia tuloksia. Laskettujen tilastoarvojen perusteella sarjan sisäinen toistuvuus on hyvä. Tulokset olivat tasaisia ja hajonta pientä. Samasta näytteestä analysoidut kaksi mittaustulosta poikkeavat toisistaan vain vähän tai eivät ollenkaan. Kontrollinäyttein arvioitu sarjojen välinen toistuvuuskin on hyvä. Laaduntarkkailunäytteiden pitoisuudet asettuvat kontrollikartoilla aivan valmistajan ilmoittamien tavoitearvojen tuntumaan eivätkö ylitä merkitsevää rajaa  $\pm 3$  SD. Kahden eri menetelmän tulostasossa sitä vastoin huomataan selkeä ero, mutta tulosten kasvaessa samassa suhteessa (voimakas korrelaatio), voidaan katsoa syyn olevan määritysmenetelmien ja niiden käyttämien reagenssien herkkyyserossa. Toisaalta tilastollinen t-testi osoitti kahden eri laitteen välillä tuloseron, eli tulokset eivät ole keskenään täsmäviä.

## 9.2 Tutkimuksen luotettavuus

Tutkimuksen kokonaisluotettavuutta arvioidaan reliabiliteetin ja validiuden käsitteillä. Validiteetti eli pätevyys kuvaa, kuinka hyvin on onnistuttu mittaamaan tarkoitettua mi-

tattavaa. Se kuvaa, onnistutaanko tutkimuksen avulla saamaan ratkaisu esitettyihin tutkimusongelmiin. Validiutta on hankalaa tarkastella jälkikäteen, minkä vuoksi se on varmistettava etukäteen huolellisella ja suunnitelmallisella työskentelyllä. (Heikkilä, 2004, 29, 186.) Reliabiliteetti eli luotettavuus on määritelty koskevaksi tulosten tarkkuutta. Saadut tulokset eivät saa luotettavuuden toteutumiseksi olla sattumanvaraisia, vaan toistettavia ja pysyviä mittauksesta toiseen. (Heikkilä 2004, 30, 187.) Reliabiliteettia on sekä sisäistä että ulkoista. Edellinen voidaan varmistaa suorittamalla saman tilastoyksikön mittaus useampaan kertaan ja saamalla sama tulos. Jälkimmäinen toteutuu, mikäli mittaus on toistettavissa muissakin tutkimuksissa ja tilanteissa. Toisin kuin validiutta, reliabiliteettia on mahdollista arvioida jälkikäteen. Validiteettiin sekä reliabiliteettiin vaikuttavat sekä systemaattiset että satunnaiset virheet. (Heikkilä 2004, 30, 187.)

Puutteellinen luotettavuus (reliabiliteetti) on usein seurausta satunnaisvirheistä, joiksi lasketaan muun muassa erilaiset mittaus- ja tietojenkäsittelyvirheet. Satunnaisvirheiden välttämiseksi tutkijalta vaaditaan tarkkaavaisuutta ja kriittisyyttä koko tutkimusprosessin ajan (Heikkilä 2004, 30, 187). Systemaattiset virheet alentavat sekä validiteettia että reliabiliteettia. Tämä johtuu virheiden luonteesta johtaa tuloksia harhaan, jolloin tulosten toistettavuus ja luotettavuus eivät toteudu ja tulosten kyky vastata tutkimusongelmiin heikentyy. (Heikkilä 2004, 29, 30 186–187.)

Parathormoni-koestus toteutettiin toimeksiantajan ohjeistuksella suppeampana, kuin luvussa 4 esitellyssä laitekoestusmallissa. Muun muassa pilottitutkimus jäi kokonaan pois analysaattorin ollessa jo rutiinikäytössä. Validiuden varmistaminen tutkimukseen valmistautumalla onnistui kuitenkin huolellisella perehtymisellä analysaattorin käyttöön kliinisellä harjoittelujaksolla, jonka jatkoksi parathormonikoestus niveltui. Koestuksen validiteetti toteutui myös asettamalla selvät tutkimusongelmat, joita koestuksessa ryhdyttiin ratkaisemaan ja joihin myös vastaukset saatiin.

Parathormoni-koestuksen reliabileetti pyrittiin takaamaan sekä sisäisenä että ulkoisena. Sisäinen reliabiliteetti toteutui koestuksessa analysoimalla parathormoni-näytteet kahdesti ja vertailemalla saatuja tuloksia niiden välisten erotusten sekä korrelaatioiden avulla. Alaluvussa 9.1 on esitelty tulokset tarkemmin, mutta lyhyesti voidaan vielä todeta mittaustulosten olleen hyvin tasaisia. Ulkoinen reliabileetti yritettiin varmistaa huolellisella dokumentaatiolla. Tutkimuksen luotettavuutta pyrittiin lisäämään täyttämällä labo-

ratoriopäiväkirjaa. Dokumentaation avulla pyrittiin takaamaan mahdollisuus palata koestuksen toteutukseen ja siihen liittyviin osioihin jälkikäteen.

Jaarinen ja Niiranen (2005, 16) toteavat analyysikirjanpidolla (laboratoriopäiväkirja) varmistettavan tulosten oikeellisuuden pitkänkin ajan kuluttua. Tarkalle dokumentoinnille asettavat vaatimuksensa myös kasvaneet taloudelliset sekä oikeudelliset tekijät (Jaarinen & Niiranen 2005, 16). Toisaalta riittävällä dokumentaatiolla todistetaan käytettyjen menetelmien, materiaalien (reagenssien) ja laitteiston toimintakunto sekä niiden välinen yhteensopivuus tuottaa luotettavaa tietoa, jolloin väärin tutkimusjohtopäätösten tekemisen riski pienenee (Seiler 2005, 182, 186). Dokumentoinnin riittävän tarkkuuden vuoksi tutkimuksen suorittajan on kirjattava koko laboratorioprosessi ylös niin, että analyysi voidaan todeta todella suoritetuksi ja mahdollisesti myös tarkastaa johtopäätökset tai uusia mittaukset. Lisäksi laboratoriopäiväkirjasta tulisi selvittää, kuka analysoinnin on suorittanut ja milloin, sekä miten tuloksiin on päästy ja mitä havaintoja on tehty. Näiden tietojen selventäminen tapahtuu kirjaamalla laboratoriopäiväkirjaan muun muassa näytetiedot, liuosten valmistus ja käyttö, olosuhteet, kaikki saadut tulokset ja muut havainnot. Olosuhdetietoihin merkitään mittauslaitteistoon liittyvät seikat, kuten keskeytykset ja korjaukset. Tuloksista merkittyjen tietojen tarkkuus tulee huomioida, jotta näytteet pystytään identifioimaan myöhemmin. (Jaarinen & Niiranen 2005, 16.) Parathormonikoestuksen yhteydessä pidetty laboratoriopäiväkirja on esitelty liitteessä 1 ja analyysipäivien päiväkirjat liitteessä 2.

Osa luotettavuutta on myös käytettyjen lähteiden kriittinen arviointi. Tämän opinnäytetyön osalta on huomioitava lähteiden julkaisuajankohta. Koestusohjelmia koskevat julkaisut ovat vuosilta 1989 ja 1990, eikä sitä tuoreempia lähteitä ollut löydettävissä. Aineisto hyväksyttiin kuitenkin lähdemateriaaliksi ohjeiden ajattomuuden, vastaavan kemistin sekä muiden, 2000-luvulla julkaistujen koestusta koskevien artikkelien ja opinnäytetöiden (Juvonen & Riissanen 2005) tarjoaman arvioinnin tukemana. Koestusta koskeva artikkeli löytyy muun muassa vuonna 2001 ilmestyneestä *Kliin.lab – kliinisen laboratorioalan julkaisusta* (nro 1). Artikkelissa käsitelty koestuksen lähdemateriaalina on käytetty vuonna 1989 julkaistun *Moodi-*lehden (nro 2) artikkelia.

### 9.3 Tutkimuksen eettisyys

Etiikka voidaan määritellä sellaiseksi filosofiseksi tieteenalaksi, jonka tutkimuskohteena on ihmisten moraalinen, eli tietyille säännöille perustuva käyttäytyminen (Mäkinen 2006, 11; Pietarinen & Poutanen 1998, 12). Tieteellistä tutkimustyötäkin ohjaavat monet eettiset tekijät, joita tulee perustellen tarkastella (Clarkeburn & Mustajoki 2007, 9, 28). Tutkimuksen eettisiin kysymyksiin ei kuitenkaan usein löydy yksiselitteistä vastausta, mutta ajateltuna etiikka taidoksi tehdä tietoisia, perusteltuja ratkaisuja, kasvaa tutkijan kyky tiedostaa tutkimusprosessia ohjaavat arvot, normit ja hyveet (Kuula 2006, 23; Clarkeburn & Mustajoki 2007, 22,25).

Tutkimuksen luotettavuuden ja eettisyyden toteutumisen kannalta on tärkeää kiinnittää huomiota muun muassa sellaisiin kysymyksiin kuin tiedonhankintaan ja hyödylliseksi koetun aineistomateriaalin hyödyntämiseen, tutkimustulosten julkistamiseen, tulosten arviointiin, tutkimuksen yksityiskohtaisuuteen, rahoitukseen ja tutkimuksesta hyötyjiin sekä ihmisarvoon. Tietoa hankittaessa tulee pitää huolta siitä, ettei oma tuotos ja aikaisemmin tuotettu materiaalia sekoitu keskenään. Tutkijan on tarkasti kirjattava ylös keneltä mikäkin ajatus on lähtöisin, itseltä vai toiselta tutkijalta. Tutkimuksesta saatuja tuloksia on myös tulkittava kriittisesti, jolloin vaatimus tulosten luotettavuuden arvioinnista toteutuu eikä kaunistelulle tai tulosten sepittämiselle jää sijaa. Tulosten raportoinnin tulee myös olla yksityiskohtaista, jotta puutteet tiedoissa eivät aiheuta harhaanjohtavia päätelmiä tai tulosten vääristymistä. Myös rahoitus ja muut sidonnaisuudet, kuten kenelle tutkija on vastuussa toiminnastaan, on otettava huomioon eettisyyttä arvioitaessa. (Hirsjärvi, Remes, Sajavaara 2009, 23–27; Pietarinen 1999, 9,11; Clarkeburn & Mustajoki 2007, 43–44, 79.)

Tutkimuksen eettisyyttä arvioimaan lähdettäessä tulisi heti aluksi huomioida aihevalinta ja sitä seuraavat jatkokysymykset. Tärkeää eettisyyden toteutumisen kannalta on pohtia muun muassa olosuhteita, taustatiedon määrää ja ammattitaitoa. Olosuhteiden eettisyys toteutuu, kun tutkimus on mahdollista suorittaa tarjolla olevissa olosuhteissa, eli käytössä on muun muassa tarvittava laitteisto ja avustava henkilökunta. Taustatiedon määrän arviointi on riskialtista. Tarvittavaa materiaalia voisi kerätä vaikka kuinka kauan, joten on perusteltua arvioida missä määrin tutkijan on oltava perillä valitsemastaan aiheesta ennen tutkimuksen aloittamista. Valitun aiheen tulee olla lisäksi ammattitaitoa tukeva ja hyödyllinen. (Clarkeburn & Mustajoki 2007, 53–55.) Ammattitaidon vaatimukseen

kuuluu muun muassa tutkimusmenetelmien riittävä hallinta, kiinnostus omaa alaa kohtaan sekä riittävä paneutuminen hankitun ja välitetyn informaatio luotettavuuden takaamiseksi (Pietarinen 1999, 10–11).

Hyöty on eettisenä kysymyksenä myös tärkeä. Kenelle tutkimuksesta on hyötyä? Ajatellaanko vain taloudellista hyötyä, vai myös yhteiskunnalle ja tutkijalle itselleen kasautuvaa hyötypääomaa? (Clarkeburn & Mustajoki 2007, 38–39, 54.) Parathormonimäärityksestä on odotettavasti etua sekä potilaalle että organisaatiolle. Kyseisen menetelmäkoestuksen hyötynäkökohdat liittyvät talouteen ja työaikaan. Tarkoituksena oli koestuksen tulosten perusteella siirtää ulkopuoliselta taholta tilattu tutkimus omaan laboratorioon, jolloin syntyisi säästöjä ja työaikka yhden tutkimuksen osalta kevenisi. Myös potilaan etu tulisi esille sairaalan laboratorion tutkimusvalikoiman monipuolistuessa ja tulosten valmistuessa nopeammin.

Tässä opinnäytetyössä on pyritty toteuttamaan edellä mainittuja eettisyyden takaavia käytäntöjä, mutta myös Tutkimuseettisen neuvottelukunnan kirjaamaa Hyvä tieteellinen käytäntö -ohjetta. Tämän opinnäytetyön toteutuksessa on noudatettu rehellisyyttä ja tarkkuutta sekä tutkimuksen aikana että saatuja tuloksia arvioitaessa, ja tiedonhankinta on ollut lähteitä kunnioittavaa ja kriittistä. Tutkimus on myös pyritty suunnittelemaan ohjeiden mukaisesti, raportoimaan yksityiskohtaisesti sekä osuus tekijyydestä ja konsultaatioavusta mainittu kiitoksena laboratorion vastaavalle kemistille ja analysaattorin vastuuhoitajalle. Myös toimeksiantaja ja opinnäytetyön rahoittaja on tuotu esille tässä opinnäytetyöraportissa. Riittävä tiedollinen ja ammatillinen kyvykkyys opinnäytetyön toteuttamiselle on varmistettu hyväksyttämällä opinnäytetyösuunnitelma opinnäytetyön ohjaajilla ennen varsinaiseen koestukseen ryhtymistä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002.)

Eettisyyden toteutumisen kannalta on huomioitu myös ammattietiikka. Bioanalytikoille on asetettu eettisiä vaatimuksia, jotka ohjaavat työskentelyä laboratoriossa ja täten myös tutkimusympäristössä. Vaatimukset on jaettu kolmen otsakkeen alle: velvollisuudet potilaalle, velvollisuudet ammattikunnalle ja velvollisuudet yhteiskunnalle. Asiakastyössä korostuvat vaatimukset potilaan hyvinvoinnin edistämisestä ja kunnioittamisesta (ihmisarvo), potilastietojen salassapitovelvollisuudesta sekä ammattitaidon ylläpitämisestä ja sitoutumisesta ammattia koskeviin säädöksiin. Ammattikuntaan liittyvät velvoit-



teet koskevat ammatin maineen tahraamattomuutta, toimivaa moniammatillista yhteistyötä sekä asiantuntijuutta ja siihen liittyvää konsultaatiotyötä. Vaatimukset yhteiskunnalle liittyvät kansalaisten ja heidän elinympäristönsä terveyden edistämiseen. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry.)

Tässä opinnäytetyössä toteutuivat ammattieettisestä näkökulmasta etenkin yksityisyydensuojan kunnioittaminen, ammatillisen osaamisen kehittäminen kemian analysointin käytön osalta sekä moniammatillinen yhteistyö bioanalytikoitten ja kemistien välillä. Potilaskontakteja opinnäytetyössä ei esiintynyt, mutta jo ihmisperäisten näytteiden käyttöön tutkimuksissa liittyy aina eettisiä kysymyksiä. Parathormoni-määrityksen koetuksessa analyysimateriaalina käytettiin potilasnäytteitä. Tunnistetietojen (sukunimet) säilyttäminen ei kuitenkaan ollut tutkimuksen kannalta tarpeellista, joten näytetiedot saatettiin anonymiin muotoon numeroimalla (Kuula 2006, 110–112) heti kun tulokset oli siirretty taulukkomuotoon. Näytteiden anonymisuus takasi myös sen, ettei näytteiden käyttöön tarvittu lupaa laboratorion ulkopuolelta (Ihalainen 2002, 136).

#### **9.4 Koestuksen tulosten hyödynnettävyys**

Koetuksessa saatujen toistettavien tuloksien perusteella parathormonimääritys otettiin osaksi Kymenlaakson keskussairaalan klinisen kemian ja hematologian laboratorion tutkimusvalikoimaa. Näytteiden käsittely helpottui, kun potilasnäytteitä ei tarvinnut enää erotella lähetettäväksi Medixlaboratorioon. Lisäksi kylmänäytteenotto ja kylmäseentrifugointi poistuivat näytteenotto-ohjeista helpottaen edelleen sekä näytteenottojan että erottelijan työtä. Sairaalan klinikotkin olivat tyytyväisiä saadessaan parathormonitulokset käyttöönsä aiempaa nopeammin.

Toisaalta Cobas-6000 -analysointilaitteella saatujen tulosten ero Medix laboratorion tulostason nähden vaati ilmoituksen menetelmän käyttöönoton yhteydessä. Laboratoriotiedotteessa ilmoitettiin parathormoni-määrityksen tulostason laskevan 30 % entisestä ja että käyttöön otettiin samat viitearvot kuin HUSlabissa, jossa parathormoni määritetään samalla menetelmällä. Yksittäisen potilaan kohdalla muutos voi poiketa keskimääräisestä. Epäselvissä tapauksissa suositellaan ottamaan kontrollinäyte. (Carea, Laboratoriotiedote 2011.) Lisäksi tiedotteessa ilmoitettiin vertailusuoran yhtälön kaava ja korrelaatio

vertailumenetelmien välillä todettiin hyväksi ( $r^2 = 0,98$ ,  $n=68$ ). Vertailusuora laskettiin yhtälön avulla:

UUSI NÄYTE =  $0,68 \times \text{VANHA TULOS} + 14,5$  (ng/l) (Carea, Laboratoriotiedote 2011).

## 9.5 Jatkotutkimusaiheet

Koestus suoritettiin melko suppeana versiona verrattuna suomalaiseen koestusohjelmaan. Useita sellaisia parametrejä jäi testaamatta, joita olisi ollut mielenkiintoista tarkastella. Jatkotutkimusaiheina voisikin olla tutkia Cobas-analysaattorin näytesekoittajasta mahdollisesti seuraavan reagenssisiirtymän mahdollisuutta tai hook-efektin vaikutusta immunokemiallisiin määritysmenetelmiin korkeiden, valmistajan ilmoittaman luotettavan pitoisuusrajan ylittävien näytteiden osalta.

## LÄHTEET

- Arstila, A., Björkqvist, S.-E., Hänninen, O. & Nienstedt, W. 2004. Ihmisen fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY.
- Ashihara, Y., Kasahara, Y. & Nakamura R. M. 2007. Teoksessa McPherson, R.A. & Pincus, M. R. (toim.) 2007. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Björkman, M. 2010. Parathyroid hormone as an outcome indicator in old age. Väitöskirja. Helsingin yliopisto. Lääketieteellinen tiedekunta. Väitöskirja.
- Carea, Laboratoriotiedote. 2011. Paastoplasman parathormonin tekopaikka muuttuu 13.6.2011 alkaen. Kymenlaakson sairaalapalvelut. Kliinisen kemian ja hematologian laboratorio.
- Clarkeburn, H. & Mustajoki, A. 2007. Tutkijan arkipäivän etiikka. Tampere: Vastapaino.
- Davies, C. 2005. Teoksessa Wild, D. (toim.) 2005. *The Immunology Handbook*, third edition. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Ehder, T. (toim.) 2005. *Kemian metrologian opas*. Helsinki: Mikes julkaisu.
- Elo, A., Koivula, T., Rantanen, T., Elg, P., Huovinen, J., Gävert, J., Forsstedt, M. & Rantala, H. 1989. Kliinisen kemian analysaattorin koestusohjelma. *Moodi* 13 (2), 96–104.
- Elo, A. & Mörsky, P. 1990. Kvantitatiiviset merkkiaineimmunomenetelmät (label immunoassays) reagenssien ja laitteiden koestus. *Moodi* 14 (3), 170–175.
- Endres, D. B., Rude, R. K. 2006. Teoksessa Ashwood, E., Bruns, D. & Burtis, C. (toim.) 2006. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Endres, D. B., Rude, R. K. 2008. Teoksessa Ashwood, E., Bruns, D. & Burtis, C. (toim.) 2008. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Yhdysvallat: Saunders.
- Eurachem. 1997. Analyttisen ja kliinisen kemian laadunvarmistussanasto. Eurachem-Suomi. KRP, Rikostekninen laboratorio. Helsinki.
- Gardella, T. & Jüppner, H. 2000. Interaction of PTH and PTHrP with Their Receptors. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders* (1), 317-329. Kluwer Academic Publishers.
- Heikkilä, T. 2004. Tilastollinen tutkimus. Helsinki:Edita.
- Hermesen, D., Franzson, L., Hoffmann, J.P., Isaksson, A., Kaufman J.M., Leary, E., Müller, C., Nakatsuka, K., Nishizawa, Y., Reinauer, H., Riesen, W., Roth, H.-J., Steinmüller, T., Troch, T., Bergmann, P. 2002. Multicenter Evaluation of a New Immunoassay for Intact PTH Measurement on the Elecsys System 2010 and 1010. *Clin. Lab.* 2002;48:131-141.
- Hirsjärvi, S., Remes, P., Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2002. Tilastolliset menetelmät. Helsinki: WSOY.
- Ihalainen, J. 2002. Ihmiskudoksen varastointia ja käyttöä koskevat säädökset ja kliinisen laboratoriotoiminta Suomessa. *Moodi* 26 (4), 135–138.
- Isales, C. M. 2009. Teoksessa Terris, D. & Gourin, C. (toim.) 2009. *Thyroid and Parathyroid Diseases*. New York: Thieme.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Edita.
- Kaiholan, H., Rintola, P., Sandbacka B. 1990. Pienten laboratorioiden kliinisen kemian analysaattorin koestusohjelma. *Moodi* 14 (3), 176–181.

- Kauppinen-Mäkelin, R. 2010. Lääkärin käsikirja.  
[http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/ltk/koti?p\\_artikkeli=ykt00580&p\\_haku=parathormoni](http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00580&p_haku=parathormoni). 6.10.2011.
- Klemm, K. M., & Klein M. J. 2007. Teoksessa McPherson, R.A. & Pincus M. R. (toim.) 2007. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Kricka, L. J. & Wild, D. 2005. Teoksessa Wild, D. (toim.) The Immunology Handbook, third edition. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Kricka, L. J. 2006. Teoksessa Ashwood, E., Bruns, D. & Burtis, C. (toim.) 2006. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Kricka, L. J. 2008. Teoksessa Ashwood, E., Bruns, D. & Burtis, C. (toim.) 2008. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Yhdysvallat; Saunders.
- Kuula, A. 2006. Tutkimusetiikka, aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys. Tampere: Vastapaino.
- KvantiMOTV. 2003. Hypoteesien testaus.  
<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/hypoteesi/testaus.html>. 26.10.2011
- KvantiMOTV. 2008. Regressioanalyysi.  
<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/regressio/analyysi.html>. 26.10.2011
- Linko, S. 1999. Menetelmävalidointi. Moodi 23 (1), 24.
- Linko, S. 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. Moodi 2 (28), 60–62.
- Makkonen, S. & Tuokko, S. 1998. Näytteenotto. Helsinki: Oy Edita Ab.
- Mustajoki, P. 2010. Lääkärikirja Duodecim. Kalsium – liikaa (hyperkalsemia) ja liian vähän (hypokalsemia).  
[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00025](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00025). 21.1.2011
- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Senkka ja sata muuta tutkimusta.  
[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03063](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03063). 6.10.2011.
- Myers, M. B. 2005. Teoksessa Wild, D. (toim.) 2005. The Immunology Handbook, third edition. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Mäkinen, O. 2006. Tutkimusetiikan ABC. Helsinki: Tammi.
- Noronkoski, T., Salmela, K. & Pölönen, T. 2001. Abbot Aeroset klinisen kemian analysaattorin koestus. Kliin.lab 18 (1), 5-9.  
[http://www.skky.fi/uploads/klab\\_011.pdf](http://www.skky.fi/uploads/klab_011.pdf). 10.1.2011.
- Penttilä, I. (toim.) 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.
- Petersen, P. H. & Dreyer, T. 1994. Laadunvarmistus kliinisessä kemiassa. Helsinki: Nordkem-julkaisu.
- Pietarinen, P. 1999. Teoksessa Lötjönen, S. (toim.) Tutkijan ammattietiikka. Tutkimuseettinen neuvottelukunta. Helsinki: Opetusministeriö, koulutus ja tiedepoliitiikan osasto.
- Rhoades, R. & Pflanzner, R. 2003. Human physiology. Yhdysvallat: Brooks/Cole.
- Roche Diagnostics. 2005. Laitemanuaali. [http://e-dok.rm.dk/C125702200417027/\\$CXIV/ERAN7T6ANT4/\\$File/COBI-CD%20-%20cobas%206000%20-%20EN.pdf](http://e-dok.rm.dk/C125702200417027/$CXIV/ERAN7T6ANT4/$File/COBI-CD%20-%20cobas%206000%20-%20EN.pdf). 26.10.2011.
- Roche Cobas. 2010. Menetelmäohje. Elecsys and cobas e analyzers.
- Seiler, J. P. 2005. Good Laboratory Practice – the Why and the How. Springer.

- Sane, T. 2005. Hypokalsemia – oireista hoitoon. Suomen lääkärilehti 60 (1), 27-31.  
[http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/ltk/avaa?p\\_artikkeli=sll22557](http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/ltk/avaa?p_artikkeli=sll22557). 6.10.2011.
- Sane, T. 2011. Hyperkalsemia. Akuuttihoito-opas. Duodecim.  
[http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/aho/koti?p\\_artikkeli=aho01075&p\\_haku=parathormoni](http://www.terveysportti.fi.tietopalvelu.pkamk.fi:8080/dtk/aho/koti?p_artikkeli=aho01075&p_haku=parathormoni). 6.10.2011
- Seppälä, E. & Tuokko, S. 2010. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Siloaho, M., Elg, P., Leppänen, E., Loikkanen, M., Puukka, R., Ruopuro, M. & Saarmana, H. 1997. Ohjeita mittaasepävarmuuden arvioimiseksi ja laskemiseksi kliinisen kemian laboratoriossa. Moodi 21 (4), 196-203.
- Smith, J. A. & Stack B. C. 2009. Teoksessa Terris, D. J. & Gourin, C. G. (toim.) 2009. Thyroid and Parathyroid Diseases. New York: Thieme.
- Sorto, A., Törmä, A. & Kaihola, H.-L. 1996. Laadunvarmistus kliinisessä laboratoriossa. Sisäisen laadunohjauksen periaatteet. Moodi 20 (5), 3-23.
- Suomen Bioanalytiikka ry. 2011. Bioanalytiikan/laboratorionhoitajan eettiset ohjeet.  
<http://www.bioanalytiikkoliitto.fi/@Bin/28024/Eettiset+ohjeet+suomi.pdf>  
 9.1.2011.
- Tilastokeskus. 2006. Hajontaluvut – variaatiokerroin.  
<http://www.stat.fi/tup/verkkokoulu/data/tt/02/11/index.html>. 26.10.2011
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö.  
[http://www.tenk.fi/hyva\\_tieteellinen\\_kaytanto/kaytanto.html](http://www.tenk.fi/hyva_tieteellinen_kaytanto/kaytanto.html). 26.10.2011.
- Vilka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Helsinki: Tammi.
- Wild, D. 2005. The Immunology Handbook, third edition. Yhdysvallat: Elsevier Saunders.
- Juvonen, T. & Riissanen, J. 2005. FP-901-kliinisen kemian analysointilaitte- ja menetelmäkoetus sekä soveltuvuuden arviointi opetuslaboratoriokäyttöön. Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö.
- Yhtyneet Medix laboratoriot. Tutkimusohjekirja.  
<http://www.yml.fi/do.xsp?viewType=productview&redirect1=%2Fdo.xsp%3FobjectType%3Dproduct%26viewType%3Dlistview&objectType=product&directoryType=&productOID=292>. 9.10.2011.

Laboratoriopäiväkirja

Liite 1 1 (2)

## LABORATORIOPÄIVÄKIRJA

PVM:

Näytetiedot:

Liuosten käyttöön liittyvät tiedot (punnitukset, laimennokset, pitoisuuksien laskeminen):

1. Vakioliuokset eli kalibraattorit:

2. Reagenssit:

3. Kontrollit:

Mittauksiin ja mittausolosuhteisiin liittyvät tiedot (käytetyt laitteet ja saadöt, keskeytykset, korjaukset ja syy niiden suorittamiseen, tiedonsiirtoon liittyvät seikat, tarkastusmerkinnät):

## Liite 1 2 (2)

Mittaustulokset, alkuperäistulokset (raw data), tiedostojen nimeäminen, tunnistusmerkinät mittaustulosten liittämiseen oikeaan näytteeseen:

Näyte	1. määritys
Elecsys PreciControl 1	
Elecsys PreciControl 2	
Elecsys PreciControl 3	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
Elecsys PreciControl 1	
Elecsys PreciControl 2	
Elecsys PreciControl 3	
Kaikki näytteet uudelleen	
Elecsys PreciControl 1	
Elecsys PreciControl 2	
Elecsys PreciControl 3	

Kolmen päivän aikana on tarkoitus analysoida 68 potilasnäytettä, niin että näytemäärä on jaettu tasaisesti useammalle päivälle (n. 20 näytettä/päivä). Tarkoituksena on analysoida myös laaduntarkkailunäytteet sarjojen alussa, välissä ja lopussa. Potilasnäytteet määritetään toistomäärittäisinä, kontrolit analysoidaan yksittäin.

Muut mittaajan arviot ja havainnot mittauksen aikana:

## LABORATORIOPÄIVÄKIRJA

### PVM:

Maanantai 4.4.2011, 1. koestuspäivä

### Näytetiedot:

Potilasnäytteitä analysoidaan 20 kappaletta sarjan sisäisen toistuvuuden arvioimiseksi. Näytteet analysoidaan ensin kerran ja kontrollinäytteiden jälkeen toistamiseen. Rinnakkaisia näytteitä ei analysoitu peräkkäin. Näytteet oli kerätty pakkaseen jo aiemmin talvella/kevällä, ja ne sulatettiin koestusaamuna ja sekoitettiin sekoittajalla, jotta näytematriisi tasoittuisi.

Kontrollinäytteitä analysoitiin kolmelta eri pitoisuustasolta mittaussarjan alussa, keskellä ja lopussa. Kontrollinäytteillä tutkittiin sarjojen välistä toistuvuutta.

### Parathormonin määrittäminen:

Parathormoninäytteet analysoitiin suoraan niistä näyteputkissa, joihin plasma oli eroteltu pakastettavaksi. Näytteet asetettiin analysaattorin omiin näytetelineisiin ("rakkeihin"). Analysaattori pipetoi näytettä 50 µl. Reagensseja menetelmässä on käytössä kolme, mutta niiden pipetoitavaa volyymia ei ole tarkasti ohjeeseen merkattu (~riittää noin 100 analyysiin). Reagenssit sisältävät määrittämisessä käytettävät ja reaktiossa tarvittavat leimatut vasta-aineet sekä mikropartikkelit (=kiinteä faasi). Sitoutumattomien vasta-aineiden huuhteluun näyteseoksesta analysaattori käyttää ProCell-liuosta. Varsinainen määrittäminen on kuvattu opinnäytetyöraportin luvussa 2, Parathormoni ja sen määrittäminen.

### Liuosten käyttöön liittyvät tiedot (punnitukset, laimennokset, pitoisuuksien laskeminen):

#### 4. Vakiooliuokset eli kalibraattorit:

Parathormonimenetelmän vakiointi suoritettiin 21.3.2011. Vakiointiin käytettiin valmistajan omaa PTH-CalSet kalibraattoria (LOT 159 099-01 voimassaoloaika 2012–01). Vakionäyte liuotettiin 1 ml Elga-vettä (tislattu vesi), seisotettiin 15 minuuttia ja sekoitettiin varovaisesti vaahdonmuodostumisen välttämiseksi.

#### 5. Reagenssit:

Parathormonimäärittämisessä käytettiin Cobaksen PTH-reagensseja (LOT 159 184–03, voimassaoloaika 2011–11). Reagenssit olivat käyttövalmiit, joten niitä ei tarvinnut liuottaa. Reagenssit säilyvät analysaattorissa 8 viikkoa.

M: Streptavidini-päällystetyt mikropartikkelit



## Liite 2 2 (4)

R1: Anti-PTH-Ab-biotiini

R2: Anti-PTH-Ab-Ru(bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>**6. Kontrollit:**

Koestuksessa käytettiin Cobaksen omia laaduntarkkailunäytteitä (LOT 159546-05 voimassaoloaika 2012–03). Näytteet liuotettiin ensimmäisenä koestuspäivänä (4.4.2011) 2 ml tislattua Elga-vettä vaa'alla punniten. Kontrollinäytteiden annettiin seistä 15 min. ja sekoitettiin kevyesti vaahtoutumisen estämiseksi. Kontrollit säilyvät valmistajan tietojen mukaan 5 vuorokautta, säilytettynä 2-8 °C. Kontrolli-menekki oli 300 µl / 3 analysointikertaa.

1. PreciControl Bone-1; tavoitearvo: 5,46 pmol/l ja vaihteluväli 4,15–6,77 pmol/l
2. PreciControl Bone-2; tavoitearvo: 17,9 pmol/l ja vaihteluväli 14,1–21,7 pmol/l
3. PreciControl Bone-3; tavoitearvo: 78,1 pmol/l ja vaihteluväli 61,7–94,5 pmol/l

**Mittauksiin ja mittaolosuhteisiin liittyvät tiedot** (käytetyt laitteet ja saadot, keskeytykset, korjaukset ja syy niiden suorittamiseen, tiedonsiirtoon liittyvät seikat, tarkastusmerkinnät):

- 1) Näytteet syötettiin käsin analysaattorin ohjaimelle, käyttäen potilaiden sukunimeä näytetunnisteena. Jatkossa näytteet on saatettu anonyymiin muotoon numeroimalla.
- 2) Kontrollien analysoinnissa ongelmia, sarjan ensimmäisiä kontrollinäytteitä ei saatu analysoidua. Näytteet analysoitiin sarjan keskellä yhdesti ja koko sarjan lopussa kahdesti.
- 3) Työskennellessä pyrittiin tarkkuuteen tietojensyötössä tapahtuvien virheiden estämiseksi (siirrettäessä näytetietoja ohjaimelle ja asetettaessa näytettä sille ohjelmoidulle näytepaikalle).

Näytteet oli tarkoitus analysoida seuraavassa järjestyksessä. Poikkeuksena kontrollinäytteet analysoitiin keskellä ja kahdesti sarjan lopussa.

Näyte	Tulos
Elecsys PreciControl 1	
Elecsys PreciControl 2	
Elecsys PreciControl 3	
1	
2	
3...	
18	
19	
20	
Kontrollinäytteet (1,2,3)	
Kaikki näytteet uudelleen	
Kontrollinäytteet (1,2,3)	

## Liite 2 3 (4)

**Muut mittaaajan arviot ja havainnot mittauksen aikana:**

Kontrollinäytteet säilytettiin mittauskysyveteissä koko päivittäisen koestusjakson ajan. Näytteen haihtuminen minimoitiin peittämällä näytekipot mittausten välillä. Sarjojen välisen toistuvuuden arvioiminen kertoo, tapahtuiko kontrollinäytteiden stabiiliudelle jotakin koestuspäivän aikana.

**2 ja 3. Koestuspäivä (5.4.–6.4.2011):****Näytetiedot:**

Analysoidaan molempina päivinä 24 potilasnäytettä sekä laaduntarkkailunäytteet 1. koestuspäivän tapaan.

**Liuosten käyttöön liittyvät tiedot (punnitukset, laimennokset, pitoisuuksien laskeminen):****7. Vakioliuokset (kalibraattorit):**

Parathormonimenetelmän vakiointi suoritettiin 21.3.2011. Vakiointiin käytettiin valmistajan omaa PTH-CalSet kalibraattoria (LOT 159 099-01 voimassaoloaika 2012–01). Vakionäyte liuotettiin 1 ml Elga-vettä (tislattu vesi), seisotettiin 15 minuuttia ja sekoitettiin varovaisesti vaahdonmuodostumisen välttämiseksi.

Vakiointia ei suoritettu uudelleen. Laitevalmistajan ohjeistuksen mukaan vakiointi tulee suorittaa jokaiselle uudelle reagenssierälle **TAI** 1 kk välein (28vrk), kun käytetään samaa reagenssierää **TAI** 7 vrk jälkeen (kun käytetään samaa reagenssia, joka on seissyt laitteessa, säilyvyys analysaattorissa 8 vrk) **TAI** tilanteen vaatiessa, mikäli kontrollitulokset ylittävät viiterajat.

**8. Reagenssit:**

Parathormonimäärityksessä käytettiin Cobaksen PTH-reagensseja (LOT 159 184–03, voimassaoloaika 2011–11). Reagenssit olivat käyttövalmiit, joten niitä ei tarvinnut liuottaa. Reagenssit säilyvät analysaattorissa 8 viikkoa.

M: Streptavidin-coated microparticles

R1: Anti-PTH-Ab-biotin

R2: Anti-PTH-Ab-Ru(bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>

## Liite 2 4 (4)

**9. Kontrollit:**

Koestuksessa käytettiin Cobaksen omia laaduntarkkailunäytteitä (LOT 159546-05 voimassaoloaika 2012–03). Näytteet liuotettiin ensimmäisenä koestuspäivänä (4.4.2011) 2 ml tislattua Elga-vettä vaa'alla punniten. Kontrollinäytteiden annettiin seistä 15 min. ja sekoitettiin kevyesti vaahtoutumisen estämiseksi. Kontrollit säilyvät valmistajan tietojen mukaan 5 vuorokautta, säilytettynä 2-8 °C. Kontrolli-menekki oli 300 µl / 3 analysointikertaa.

4. PreciControl Bone-1; tavoitearvo: 5,46 pmol/l ja vaihteluväli 4,15–6,77 pmol/l
5. PreciControl Bone-2; tavoitearvo: 17,9 pmol/l ja vaihteluväli 14,1–21,7 pmol/l
6. PreciControl Bone-3; tavoitearvo: 78,1 pmol/l ja vaihteluväli 61,7–94,5 pmol/l

**Mittauksiin ja mittaolosuhteisiin liittyvät tiedot** (käytetyt laitteet ja saadot, keskeytykset, korjaukset ja syy niiden suorittamiseen, tiedonsiirtoon liittyvät seikat, tarkastusmerkinnät):

**2. Koestuspäivä:**

- 1) Sarjan alkuun sijoitetut kontrollit saatiin analysoidua suunnitellulla paikallaan.
- 2) Potilasnäytteiden 1. määrittyskertaa keskeytyi. Keskeytys ei kuitenkaan ollut sitä luokkaa, että sarja olisi pitänyt analysoida kokonaan uudelleen. Tilanne johtui analysaattorin käyttämien kertakäyttöpipettien telineen huonosta asennosta, jolloin laite jumiutui. Toimenpiteenä analysaattori asetettiin ”pause-tilaan” + resetoitiin (mechanism check). Näytteet, joiden tulokset jäivät puuttumaan, analysoitiin tilanteen korjaannuttua.
- 3) Reagenssi loppui sarjan aikana. Uusi reagenssi lisättiin, mutta koska se oli samaa erää (LOT) kuin edellinen, ei vakiointia tarvinnut uusia ja kontrollituloksetkin pysyivät edelleen viitevälillä.

**3. Koestuspäivä:**

- 1) Kolmantena koestupäivänä kaikki sujui ongelmitta.

Näytteet analysoitiin 2. ja 3. koestuspäivänä samalla kaavalla, kuin ensimmäisenäkin päivänä. Tällä kertaa suunnitelmassa pysyttiin tarkasti (katso ja vrt. 1. koestuspäivä analysointikartta).

**Muut mittaaajan arviot ja havainnot mittauksen aikana:**

Uudet kontrollit pipetoitiin molempina koestuspäivinä, mutta saman koestuspäivän sisällä näytteitä ei vaihdettu, vaan haihtuminen pyrittiin minimoimaan peittämällä näyteastiat hyvin. Kontrollinäytteiden stabiiliudessa mahdollisesti esiintyvät muutokset tulevat arvioitua sarjojen välisiä toistuvuutta tarkasteltaessa.

**KAAVA 1. Keskiarvo,  $\bar{x}$**  (Heikkilä 2004, 83)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$\sum x$  = havaintojen summa

n = havaintojen lukumäärä

**Kaava 2. Keskihajonta (SD) parinäytteistä** (Kaihola ym. 1990, 181)

$$s^2 = \frac{\sum(d^2)}{2n} \quad SD = s = \sqrt{s^2}$$

d = näytteiden rinnakkaismääritysten erotu ( $a_1 - a_2$ )

n = parien lukumäärä

SD= keskihajonta

$\bar{x}$  = keskiarvo

**Kaava 3. Variaatiokerroin, CV %** (Holopainen & Pulkkinen 2002, 88)

$$CV \% = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

SD = keskihajonta

$\bar{x}$  = keskiarvo

**Kaava 4. Keskihajonta, SD** (Heikkilä 2004, 86)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$\bar{x}$  = havaintoarvojen keskiarvo

n = havaintojen lukumäärä

**Kaava 6. Pearsonin korrelaatiokerroin, r** (Heikkilä 2004, 91)

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x s_y}$$

$s_x$  ja  $s_y$  = muuttujien x ja y keskihajonnat

Toistomittauksin saadut PTH-tulokset ryhmiteltyinä pitoisuuksien mukaan

Liite 4

1. alle 10 pmol/l		2. 10–30 pmol/l		3. yli 30 pmol/l	
9,0	8,8	25,5	<b>25,9</b>	57,8	57,7
9,9	<b>10,0</b>	29,1	28,6	58,6	<b>60,1</b>
9,5	9,5	27,7	27,5	49,2	49,0
8,9	8,8	21,6	21,6	38,9	39,2
8,7	8,6	15,8	15,7	39,2	39,8
6,7	<b>6,9</b>	18,0	18,1	31,7	32,1
7,3	7,2	22,2	22,3	30,2	30,2
6,7	<b>6,9</b>	18,0	18,0	ka.	<b>43,8</b>
7,4	7,4	22,0	21,7	SD	<b>11,31939</b>
6,9	6,8	21,7	<b>21,8</b>	r	<b>0,998893</b>
5,1	5,0	19,0	19,0	CV %	<b>26 %</b>
4,8	4,8	21,5	21,3		
4,7	<b>4,9</b>	13,5	13,4		
4,4	4,4	12,2	12,1		
3,8	3,8	15,2	14,7		
4,1	4,1	13,4	13,4		
3,6	3,6	11,7	<b>11,9</b>		
3,5	3,5	14,1	14,1		
4,1	4,2	15,0	14,9		
4,4	4,3	17,1	16,5		
3,2	3,2	11,6	11,3		
3,5	<b>3,6</b>	11,5	11,5		
3,5	3,6	11,0	10,9		
3,2	3,3	10,4	<b>10,7</b>		
3,6	3,7	ka.	<b>17,4</b>		
3,6	<b>3,8</b>	SD	<b>5,374773</b>		
2,8	2,8	r	<b>0,999026</b>		
3,6	3,6	CV %	<b>31 %</b>		
3,4	3,4				
3,7	3,6				
3,2	3,3				
3,0	3,2				
3,5	<b>3,7</b>				
2,7	<b>2,8</b>				
2,2	2,2				
1,9	<b>2,0</b>				
2,3	2,3				
ka.	<b>4,8</b>				
SD	<b>2,211986</b>				
r	<b>0,998985</b>				
CV %	<b>46 %</b>				

## Medixin ja Cobaksen tulokset

## Liite 5

Näyte	Medix	Cobas (ka.)	erotus	Näyte	Medix	Cobas (ka.)	erotus
1	87	57,8	-29,3	35	10	8,9	-1,2
2	75	59,4	-15,7	36	10	8,7	-1,4
3	70	39,1	-31,0	37	9,9	6,8	-3,1
4	62	49,1	-12,9	38	9,7	7,3	-2,5
5	56	39,5	-16,5	39	8,3	6,8	-1,5
6	42	31,9	-10,1	40	7,6	7,4	-0,2
7	39	25,7	-13,3	41	7,6	6,9	-0,8
8	36	28,9	-7,2	42	6,4	5,1	-1,4
9	36	30,2	-5,8	43	5,5	4,8	-0,7
10	35	27,6	-7,4	44	5,4	4,8	-0,6
11	28	21,6	-6,4	45	4,6	4,4	-0,2
12	28	15,8	-12,3	46	4,6	3,8	-0,8
13	27	18,1	-9,0	47	4,1	4,1	0,0
14	26	22,3	-3,8	48	4,1	3,6	-0,5
15	25	18,0	-7,0	49	3,8	3,5	-0,3
16	25	21,9	-3,2	50	3,6	4,2	0,6
17	25	21,8	-3,3	51	3,4	4,4	1,0
18	25	19,0	-6,0	52	3,3	3,2	-0,1
19	25	21,4	-3,6	53	3,2	3,6	0,4
20	20	13,5	-6,6	54	3,2	3,6	0,4
21	19	12,2	-6,9	55	3,2	3,3	0,0
22	19	15,0	-4,1	56	3,1	3,7	0,6
23	19	13,4	-5,6	57	2,7	3,7	1,0
24	18	11,8	-6,2	58	2,7	2,8	0,1
25	17	14,1	-2,9	59	2,6	3,6	1,0
26	16	15,0	-1,1	60	2,5	3,4	0,9
27	16	16,8	0,8	61	2,4	3,7	1,3
28	15	11,5	-3,6	62	2,1	3,3	1,2
29	15	11,5	-3,5	63	2,1	3,1	1,0
30	14	8,9	-5,1	64	2,1	3,6	1,5
31	14	10,0	-4,1	65	1,8	2,8	1,0
32	13	11,0	-2,1	66	1,6	2,2	0,6
33	13	10,6	-2,5	67	1,1	2,0	0,9
34	12	9,5	-2,5	68	0,9	2,3	1,4

## PreciControl -kontrollinäytteiden tulokset kolmena analysointipäivänä

Liite 6

Mittauspäivä	Klo		Bone1	Bone2	Bone3
4.4.2011 (1)	9.15		5,5	18,5	78,4
4.4.2011 (1)	10.10		5,6	18,4	78,3
4.4.2011 (1)	10.30		5,6	18,8	79,8
5.4.2011 (2)	7.18		5,5	17,8	76,9
5.4.2011 (2)	10.04		5,6	18,4	78,4
<b>5.4.2011 (2)</b>	<b>12.25</b>	<b>reagenssin vaihto</b>	<b>5,8</b>	<b>18,9</b>	<b>81,7</b>
6.4.2011 (3)	7.19		5,4	17,6	75,7
6.4.2011 (3)	7.46		5,4	17,6	76,9
6.4.2011 (3)	8.47		5,5	18,1	78,2
		<b>keskiarvo</b>	<b>5,5444</b>	<b>18,233</b>	<b>78,322</b>
		<b>SD</b>	<b>0,12</b>	<b>0,49</b>	<b>1,76</b>
		<b>CV %</b>	<b>2,1 %</b>	<b>2,8 %</b>	<b>2,3 %</b>

## Hypoteesien tilastollisen testauksen t-testitulokset

## Liite 7 1 (3)

	Medix pmol/l	Cobas $\bar{x}$	Cobas I mää- ritys	Cobas II määri- tys	Cobas I ja II erotus
1	87	57,8	57,8	57,7	-0,1
2	75	59,4	58,6	60,1	1,5
3	70	39,1	38,9	39,2	0,3
4	62	49,1	49,2	49,0	-0,2
5	56	39,5	39,2	39,8	0,6
6	42	31,9	31,7	32,1	0,4
7	39	25,7	25,5	25,9	0,4
8	36	28,9	29,1	28,6	-0,5
9	36	30,2	30,2	30,2	0,0
10	35	27,6	27,7	27,5	-0,2
11	28	21,6	21,6	21,6	0,0
12	28	15,8	15,8	15,7	-0,1
13	27	18,1	18,0	18,1	0,1
14	26	22,3	22,2	22,3	0,1
15	25	18,0	18,0	18,0	0,0
16	25	21,9	22,0	21,7	-0,3
17	25	21,8	21,7	21,8	0,1
18	25	19,0	19,0	19,0	0,0
19	25	21,4	21,5	21,3	-0,2
20	20	13,5	13,5	13,4	-0,1
21	19	12,2	12,2	12,1	-0,1
22	19	15,0	15,2	14,7	-0,5
23	19	13,4	13,4	13,4	0,0
24	18	11,8	11,7	11,9	0,2
25	17	14,1	14,1	14,1	0,0
26	16	15,0	15,0	14,9	-0,1
27	16	16,8	17,1	16,5	-0,6
28	15	11,5	11,6	11,3	-0,3
29	15	11,5	11,5	11,5	0,0
30	14	8,9	9,0	8,8	-0,2
31	14	10,0	9,9	10,0	0,1
32	13	11,0	11,0	10,9	-0,1
33	13	10,6	10,4	10,7	0,3



## Hypoteesien tilastollisen testauksen t-testitulokset

## Liite 7 2 (3)

	Medix pmol/l	Cobas $\bar{x}$	Cobas I mää- ritys	Cobas II määri- tys	Cobas I ja II erotus
34	12	9,5	9,5	9,5	0,0
35	10	8,9	8,9	8,8	-0,1
36	10	8,7	8,7	8,6	-0,1
37	9,9	6,8	6,7	6,9	0,2
38	9,7	7,3	7,3	7,2	-0,1
39	8,3	6,8	6,7	6,9	0,2
40	7,6	7,4	7,4	7,4	0,0
41	7,6	6,9	6,9	6,8	-0,1
42	6,4	5,1	5,1	5,0	-0,1
43	5,5	4,8	4,8	4,8	0,0
44	5,4	4,8	4,7	4,9	0,2
45	4,6	4,4	4,4	4,4	0,0
46	4,6	3,8	3,8	3,8	0,0
47	4,1	4,1	4,1	4,1	0,0
48	4,1	3,6	3,6	3,6	0,0
49	3,8	3,5	3,5	3,5	0,0
50	3,6	4,2	4,1	4,2	0,1
51	3,4	4,4	4,4	4,3	-0,1
52	3,3	3,2	3,2	3,2	0,0
53	3,2	3,6	3,5	3,6	0,1
54	3,2	3,6	3,5	3,6	0,1
55	3,2	3,3	3,2	3,3	0,1
56	3,1	3,7	3,6	3,7	0,1
57	2,7	3,7	3,6	3,8	0,2
58	2,7	2,8	2,8	2,8	0,0
59	2,6	3,6	3,6	3,6	0,0
60	2,5	3,4	3,4	3,4	0,0
61	2,4	3,7	3,7	3,6	-0,1
62	2,1	3,3	3,2	3,3	0,1
63	2,1	3,1	3,0	3,2	0,2
64	2,1	3,6	3,5	3,7	0,2
65	1,8	2,8	2,7	2,8	0,1

## Hypoteesien tilastollisen testauksen t-testitulokset

## Liite 7 3 (3)

	Medix pmol/l	Cobas $\bar{x}$	Cobas I määritys	Cobas II määritys	Cobas I ja II erotus
66	1,6	2,2	2,2	2,2	0,0
67	1,1	2,0	1,9	2,0	0,1
68	0,9	2,3	2,3	2,3	0,0
t-testi, p-arvo		<b>4,14503E-06</b>		<b>0,41729481</b>	